Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

HISTOTOPOCHEMIE UND FUNKTION VON HYDROLASEN IN DER JUNGEN UND REIFEN MENSCHLICHEN PLAZENTA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Rudolf Mayer
aus Blaubeuren

1969

Aus der Universitäts-Frauenklinik Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

HISTOTOPOCHEMIE UND FUNKTION VON HYDROLASEN IN DER JUNGEN UND REIFEN MENSCHLICHEN PLAZENTA

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Rudolf Mayer
aus Blaubeuren

1969

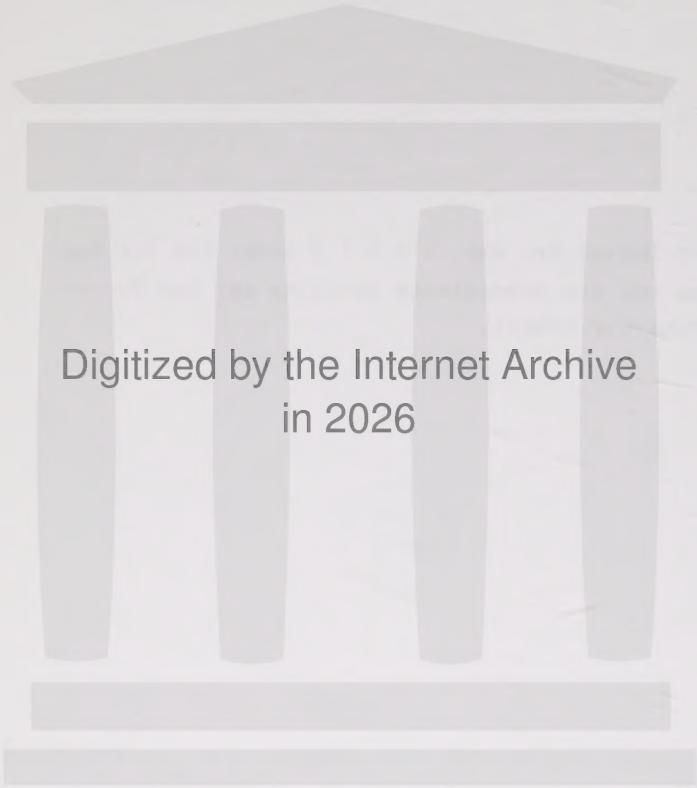
UNIV.
LEIDEN
BIBL.

D e k a n : Prof. Dr. med. W. G r a u m a n n

1. Berichterstatter: Dozent Dr. med. P.A. K ö n i g

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. R o e m e r

Herrn Dozent Dr. med. K ö n i g danke ich für das Thema und die freundliche Beratung bei der Durchführung der Arbeit.


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547612_0120

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I	Einleitung	1
II	Methodik	2
	1. Material	2
	2. Präparation	3
	3. Histochemische Reaktion	3
III	Hydrolasen, eigene Untersuchungen und Vergleich mit bisherigen biochemischen und histochemischen Ergebnissen.	5
	1. Karbonsäureester-Hydrolasen	5
	a) Unspezifische Esterasen und Lipasen	5
	b) Cholinesterasen	9
	2. Phosphomonoester-Hydrolasen	13
	a) Alkalische Phosphatase	13
	b) Saure Phosphatase	18
	c) 5-Nukleotidase	22
	d) Glukose-6-phosphatase	26
	e) Phosphoamidase	30
	3. Schwefelsäureester-Hydrolasen Arylsulfatase	32
	4. Glykosid-Hydrolasen ß-D-Galaktosidase	36
	5. Peptid-Hydrolasen Leucinaminopeptidase	39
	6. Säureanhydridbindungen spaltende Hydrolasen Adenosintriphosphatase	43
	7. C-O-Lyasen Karbonsäureanhydrase	48

Seite

IV Histochemische Befunde bei Präeklampsie und Eklampsie. 52

V Funktion der Hydrolasen in der Plazenta

1. Einleitung 56
2. Aktive Transportvorgänge an der Plazentaschranke. 57
3. Kohlehydratstoffwechsel 61
4. Eiweißstoffwechsel 63
5. Fettstoffwechsel 65
6. Endokrine Funktion 66

Zusammenfassung 68
Tabellen 70
Abbildungen 88
Literaturverzeichnis 90

I Einleitung

Unter den Organen des Menschen und der höheren Tiere nimmt die Plazenta durch ihre rasche Entwicklung zum funktionstüchtigen Organ und durch die Vielfalt ihrer Aufgaben eine Sonderstellung ein. Sie übernimmt die Funktionen, die Voraussetzung für die Erhaltung der Schwangerschaft und das Wachstum der Frucht sind. Zwischen mütterlichem und fetalem Kreislauf hat sie eine wichtige Aufgabe als Transport- und Austauschorgan. Alle zum Wachstum benötigten Stoffe erhält der Fetus über die Plazenta. Seine Stoffwechselabbauprodukte eliminiert er über dieselbe Gewebsschranke. Die Entdeckung von Glykogen in diesem Organ durch Claude BERNARD gab den ersten Hinweis auf mögliche Funktionen im Intermediärstoffwechsel. Diese Fragen wurden zwar weiter erforscht aber längst nicht geklärt. Bei Versuchstieren konnte NEMETH (1954, 1959) zeigen, daß die Leber die für einige Stoffwechselreaktionen notwendigen Enzyme bis kurz vor der Geburt nicht besitzt. HAGERMANN (1962) deutet an, daß die Plazenta wahrscheinlich manche Funktionen im Kohlehydrat-, Eiweiß- und Fettstoffwechsel so lange übernimmt, bis die fetalen Organe dazu selbst in der Lage sind. Die endokrine Funktion der Plazenta ist eine wesentliche Voraussetzung für die Erhaltung der Schwangerschaft.

Enzyme sind Katalysatoren spezifischer Stoffwechselprozesse. Aus dem Nachweis von Enzymen oder Enzymgruppen in einem Organ kann auf mögliche Funktionen desselben geschlossen werden. So hat neben biochemischen und mikroskopisch-anatomischen Untersuchungen die Enzymhistochemie Anteil an der Erforschung der Plazenta und ihren Funktionen.

Drei große Gruppen von Enzymen sind in der Plazenta zu erwarten. An erster Stelle finden sich Enzyme, die wie in jedem anderen Organ den eigenen Zellstoffwechsel kontrollieren, der Voraussetzung für die Erhaltung der Zellen selbst, der Gewebsstrukturen und für das Wachstum ist.

Eine zweite Gruppe stellen Enzymsysteme dar, die aktive Transportvorgänge an der Plazentaschranke steuern. Dazu sind in vermehrtem Umfang auch energieliefernde Mechanismen nötig. Für metabolische und endokrine Funktionen ist die Aktivität entsprechender Enzyme Voraussetzung.

In dieser Untersuchung werden mit histochemischen Methoden Enzyme aus der Gruppe der Hydrolasen in der jungen und reifen menschlichen Plazenta lokalisiert. Die Ergebnisse werden mit bisher auf diesem Gebiet erschienenen Referaten des Schrifttums verglichen. Kritisch zu betrachten ist der Versuch, die Lokalisation dieser Enzyme mit bestimmten Funktionen in Zusammenhang zu bringen. Die Enzyme werden durch Substrate charakterisiert. Trotzdem bleibt ihre physiologische Rolle weitgehend ungeklärt, da aus dem histochemischen Enzymnachweis allein nicht entschieden werden kann, in welchen speziellen Stoffwechselprozeß ein Enzym eingeschaltet ist. Unspezifische Enzyme wie die Phosphatasen können an vielen Stoffwechselprozessen beteiligt sein, während die Funktion spezifischer Enzyme leichter zu definieren ist. Diese Arbeit soll aufzeigen, welche Möglichkeiten der Funktion für die untersuchten Enzyme im Zusammenhang mit ihrer Lokalisation im Plazentagewebe bestehen. Erstmals wurden in dieser Untersuchung mit histochemischen Methoden die Phosphoamidase, die Arylsulfatase und die ß-D-Galaktosidase in der menschlichen Plazenta erfaßt.

II Methodik

1. Material

Zur Untersuchung standen insgesamt 29 Plazenten zur Verfügung (siehe Tabelle Nr. I, Seite 70). Das Material stammte in sieben Fällen von Schwangerschaftsunterbrechungen. Von den zahlreichen in der Klinik anfallenden Fehlgeburten wurden nur solche Fälle berücksichtigt, bei denen das histologische Bild keine stärkeren entzündlichen oder nekrotischen und autolytischen Veränderungen erkennen ließ. Unter

den so ausgewählten elf Plazenten befanden sich auch drei Fälle von Tubarabort. Neben einem Einzelfall einer Mola ventosa aus der 14. Woche konnten auch je eine Plazenta von einer Präeklampsie und einer Eklampsie mit tödlichem Ausgang untersucht werden. Acht Plazenten stammten von Spontangeburten am Termin, zwei von Übertragungen und eine von einer Sectio in der 42. Woche.

2. Präparation

Bei der Vorbehandlung der Gewebe ist zu berücksichtigen, daß gute morphologische Struktur und unveränderte Enzymaktivität eine unterschiedliche Behandlung verlangen. Alle Untersuchungen wurden mit unfixierten Kryostatschnitten durchgeführt. Diese haben den Vorteil, daß die Enzyme weitgehend unverändert bleiben, d.h. durch Fixierung und Einbettung nicht denaturiert und inaktiviert werden. Das Einfrieren der Gewebe genügt jedoch, um in vivo latente Enzyme wie z.B. die lysosomalen zu aktivieren. Der gut erhaltenen Enzymaktivität steht der Nachteil gegenüber, daß infolge mangelnder Fixation die Gefahr der Enzymdiffusion größer ist. In einigen Fällen wurden die Schnitte daher vor der Inkubation kurz in Aceton oder Formalin fixiert.

Das Untersuchungsmaterial wurde sofort nach der Operation eingefroren. Zur weiteren Bearbeitung wurden 16 µ dicke Kryostatschnitte nach der Technik von LINDERSTRØM-LANGE in der Modifikation von COONS (1951) hergestellt. Die Schnitte wurden sofort auf Objektträger angefroren, indem diese von der Unterseite her kurz mit dem Daumen erwärmt wurden. Die angetrockneten Schnitte wurden auf dem Objektträger in das Inkubationsmedium gebracht.

3. Histochemische Reaktion

Der histochemische Nachweis einer Enzymlokalisation erfolgt durch chemische Reaktionen. Zuerst wird dem Enzym ein spezifisches Substrat zur Spaltung angeboten. In einer zweiten Reaktion, der sogenannten Visualisation, werden die Produkte der Enzymkatalyse durch Umwandlung in einen

Farbstoff sichtbar gemacht. Die Untersuchung von Hydrolasen in der menschlichen Plazenta wurde in dieser Arbeit mit bekannten und bewährten Azofarbstoffreaktionen und Metallsalzmethoden durchgeführt. Bei den ersteren werden die aus dem angebotenen Substrat freigesetzten Phenolgruppen mit Diazoniumsalzen in Azofarbstoffe umgewandelt. Bei Azofarbstoffreaktionen mit Simultankupplung enthält das Inkubationsmedium gleichzeitig das Diazoniumsalz. Die sofortige Fällung der Hydrolyseprodukte ermöglicht eine genaue Lokalisation des Farbstoffes am Ort der Enzymaktivität. Eine Simultankupplung kann nicht durchgeführt werden, wenn die Azoreaktion andere Bedingungen (pH, Ionenmilieu) braucht als die Enzymkatalyse oder wenn das Enzym durch das Diazoniumsalz gehemmt wird. In diesen Fällen wird die Farbstoffkupplung in einer zweiten Reaktion vollzogen. Diese Succedankupplung hat zur Voraussetzung, daß das Spaltprodukt nur sehr wenig löslich ist, da sonst Diffusionsartefakte entstehen.

Ähnlich verläuft die Reaktion bei den sogenannten Metallsalzmethoden. Dabei werden fermentativ freigesetzte Säuregruppen durch Metallionen gefällt. Diese zunächst farblosen Metallsalze werden durch weitere Umfällungen in farbige Praezipitate, meist schwarze Metallsulfide, umgewandelt.

Von einem Substrat wird Stabilitat und kein spontaner Zerfall, gute Permeabilität und Spaltung durch ein spezifisches Enzym verlangt. Die Endprodukte der Reaktion sollen chemisch stabil, unlöslich und intensiv gefärbt sein. Kristalline Farbstoffe lassen eine genauere Lokalisation nicht zu.

Zum Ausschluß falsch positiver Reaktionen wurden in allen Fällen Kontrollreaktionen durchgeführt. Diese erfolgten durch Inkubation von Gewebsschnitten, deren Enzyme durch Hitze oder Lugol'scher Lösung inaktiviert worden waren, und durch Inkubation in einem Medium ohne Substrat.

III Hydrolasen

Eigene Untersuchungen und Vergleich mit bisherigen biochemischen und histochemischen Ergebnissen.

1) Karbonsäureesterasen

Die Karbonsäureesterasen katalysieren die Hydrolyse und Synthese von Karbonsäureestern. Aus dieser Enzymgruppe sind mit histochemischen Methoden die unspezifischen Esterasen oder Aliesterasen, die Lipasen, die Pseudocholinesterasen und die Azetylcholinesterasen nachzuweisen. Nach der alten Definition bevorzugen die Aliesterasen zur Katalyse die Karbonsäureester 1-wertiger Alkohole und die Glyzeride niederer Fettsäuren, während die Lipasen eher die Fettsäureester mehrwertiger Alkonole und die Glyzeride höherer Fettsäuren spalten. Neuere Untersuchungen zeigten aber, daß eine Differenzierung durch verschiedene Substrate, durch Inhibitoren und Aktivatoren nicht möglich ist, weil sich die Wirkungsbereiche einzelner Enzyme stark überschneiden. CHESSIK (1953) hält ein ganzes Spektrum solcher Enzyme für wahrscheinlich. Ein histochemischer Nachweis erfaßt demnach kein einzelnes Enzym, sondern die kombinierte Aktivität mehrerer eng verwandter Enzyme. Als Lipase sicher abgegrenzt ist allein die Pankreaslipase, die nur auf emulgierte wasserunlösliche Substrate einwirkt. Dennoch wird in der Literatur noch an den alten Bezeichnungen festgehalten.

Die Cholinesterasen spalten Cholinester mit höherer Geschwindigkeit als andere Ester und werden durch Eserin (10^{-5}mol) spezifisch gehemmt. Wegen zu geringer Substratspezifität läßt sich aber keine scharfe Grenze zu den unspezifischen Esterasen und Lipasen ziehen.

a) Unspezifische Esterasen und Lipasen

MAEDA (1923) zeigte an der Lipase zum ersten Mal, daß die Plazenta selbst Fermente bilden kann. Im Unterschied zur Serumlipase ist die Plazentalipase durch Chinin und Atoxyl nicht hemmbar. In biochemischen Untersuchungen fanden

ANSELMINO und HOFFMANN (1930) und ABE (1932) ein Maximum der Lipaseaktivität in der Plazenta im 4.- 6. Schwangerschaftsmonat. Die Abnahme der Aktivität in der 2. Hälfte der Schwangerschaft spiegelt nach HOFFMANN (1930) nur die Bindegewebszunahme der Plazenta wider, während die Aktivität der Trophoblastzellen gleich bleibt.

Für die Lipasen und Aliesterasen wird eine Beteiligung bei Hydrolyse und Synthese angenommen. Ihre Substrate sind Karbonsäureester, Karbonsäureanhydride, Thioester, C-N-Bindungen und Phosphoesterbindungen. Die Substratspezifität ist gering. Die Estersynthese findet in vivo möglicherweise auf verschiedenen Wegen statt:

1) Umkehrung der Hydrolyse. HERNANDEZ und CHAIKOF (1957) beobachteten eine veresternde Wirkung einer weitgehend gereinigten Pankreas-Cholinesterase.

2) Reaktion über energiereiche Vorstufen. Die Synthese von Palmitinsäurecholesterinester verläuft über eine Acyl-Coenzym- A- Verbindung, die mit Hilfe von Adenosintriphosphat gebildet wird (MUKHERJEE, KUNITAKE und ALFIN - SLATER 1958). MÜHLBÖCK und KAUFMANN (1937) untersuchten die Wirkung von Hormonen auf fettspaltende Enzyme. Während Hypophysenhormone, weibliche Sexualhormone, Insulin und Adrenalin keinen Einfluß haben, hemmt Thyroxin die Lipasen der Plazenta. Thyroxin hemmt aber nur die Hydrolyse. Die Fettsynthese wird nicht beeinflußt.

Die ersten histochemischen Untersuchungen an der menschlichen Plazenta wurden von GOMORI (1941) durchgeführt. Die angewandte Methode entsprach im Prinzip dem Nachweis der Phosphatasen. GOMORI (1941) konnte eine Lipaseaktivität in der Plazenta nachweisen. WISLOCKI und Mitarbeiter (1948) konnten diese Befunde an der reifen Plazenta aber nicht bestätigen.

In neueren Untersuchungen lokalisierten PERROTTAund LEWIS (1956) die unspezifischen Esterasen in der menschlichen Plazenta nur im Trophoblasten. Dieselbe Lokalisation erhielten Mc. KAY und Mitarbeiter (1960). Sie fanden aber

auch eine Aktivität des Zottenbindegewebes und hier insbesondere der Makrophagen im Stroma. Mc. KAY sowie UHER und JIRASEK (1963) beschrieben auch eine Esteraseaktivität der Hofbauerzellen. In den Untersuchungen von WACHSTEIN und Mitarb. (1963) waren diese negativ, die Gefäßendothelien aber stark und die Gefäßmuskulatur schwach positiv. Über die intrazelluläre Lokalisation der Esterasen ist wenig bekannt. HOLT und WITHERS (1952) untersuchten die Rattenniere histochemisch mit Indoxylderivaten. Die Aktivität war assoziiert mit "sperica l bodies" von 1-3 µ Durchmesser. HOLT und WITHERS identifizierten diese als Mitochondrien. Die positive Esterasereaktion im Cytoplasma und die negative Reaktion der Kerne konnte auch in anderen Organen der Ratte nachgewiesen werden (BARNETT und SELIGMANN 1951).

Eigene Untersuchungen

Mit der Azofarbstoffkupplungsreaktion nach NACHLAS und SELIGMANN (1949), modifiziert nach GOMORI (1950), wurden 24 Plazenten (Nr. 1-16, 19-24, 27 und 29 der Tabelle I) auf unspezifische Esterasen bzw. Lipasen untersucht. Dieses Material setzt sich aus sieben Fällen von Interruptio, neun Fehlgeburten, davon drei bei Tubargravidität, vier Spontangeburten und je einem Fall von Mola ventosa, Präeklampsie, Eklampsie und Sektio zusammen. GOMORI (1950) schlug vor, anstelle des ß- Naphtyl-acetat das α- Naphtyl-acetat zu verwenden. Zusammen mit Echtblau B als stabilem Tetrazoniumsalz erhielt er einen weniger löslichen und diffusiblen Azofarbstoff. Bei den eigenen Untersuchungen der menschlichen Plazenta war bei einem pH von 7,2 eine Inkubationszeit von nur 30 Minuten erforderlich. Dadurch waren auch ohne Fixierung keine großen Diffusionsartefakte zu erwarten. Mit Natriumtaurocholat (5×10^{-3} mol) als Aktivator der Lipasen und Inhibitor der unspezifischen Esterasen wurde eine Differenzierung der Enzyme versucht.

In Voruntersuchungen wurde auch die Naphtol-AS-Acetatmethode nach GOMORI (1952) angewandt. Es wurden jedoch keine

befriedigenden Ergebnisse erzielt.

Ergebnisse

Der Trophoblast reagiert mit geringen Unterschieden der einzelnen Präparate in allen Plazenten stark positiv. Dabei läßt sich in der Farbintensität von Langhanszellen und Syncytium oft kein Unterschied erkennen. An anderen Stellen ist die Farbintensität der Langhanszellen dagegen deutlich geringer. Bei schwächerer Reaktion treten die Kerne heller hervor, während bei starker Aktivität auch die Kerne vom Praezipitat bedeckt sind. Die Reaktion ist also überwiegend im Cytoplasma lokalisiert.

Im Stroma ist die Reaktion auf zellige Elemente beschränkt. Gelegentlich auftretende diffuse Stromareaktion könnte auf Enzymdiffusion beruhen.

Die Gefäße jüngerer Plazenten bleiben negativ. erst in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft bis zum Termin weisen sie eine geringe Farbintensität auf, wovon vorwiegend die mittleren und kleineren Gefäße in den Stammzotten betroffen sind. Die intensivste Reaktion zeigen die Endothelien. Die Media und Adventitia weist nur eine geringe Intensität der Farbreaktion auf.

Die Hofbauerzellen reagieren immer deutlich positiv. Bei Zusatz von Natriumtaurocholat (5×10^{3} mol) zum Inkubationsmedium ist die Reaktion in allen Zottenstrukturen gleichmäßig abgeschwächt. Die Enzymaktivität ist noch geringer, wenn die Schnitte zuerst mit dem Hemmstoff Natriumtaurocholat inkubiert werden und erst 30 Minuten später das Substrat in die Inkubationslösung gegeben wird.

Diskussion

Die Autoren sind sich einig in der Frage der Aktivität des Trophoblasten, dessen hohe Esterasenaktivität bestätigt werden konnte. Unterschiedliche Ergebnisse liegen aber bezüglich der Aktivität von Stroma, Gefäßen und Hofbauerzellen vor. Die eigenen Befunde entsprechen denen von Mc. KAY und

Mitarb. (1958), die sowohl im Trophoblasten wie im Stroma und den Hofbauerzellen Esteraseaktivität beschrieben. Darüber hinaus wurde mit WACHSTEIN und Mitarb. (1963) eine Enzymaktivität in den Gefäßen gefunden.

Nach biochemischen Untersuchungen hat die Plazenta in allen Altersstufen eine gleichbleibend hohe Esteraseaktivität. Bei den vorliegenden Untersuchungen machten hierin nur die Gefäße eine Ausnahme, die erst in der 2. Hälfte der Schwangerschaft positiv reagierten. Diese Gefäßaktivität zeigt auffallende Parallelen zu den bei den Cholinesterasen gefundenen Ergebnissen. Mit Natriumtaurocholat wurde eine partielle Hemmung der Reaktion erzielt. Da diese Substanz die unspezifischen Esterasen hemmt und die Lipasen aktiviert, würde dieser Befund dafür sprechen, daß die Plazenta überwiegend unspezifische Esterasen enthält.

b) Cholinesterasen

Die Schwierigkeiten der Differenzierung der Karbonsäureesterasen spiegelt sich in den zahlreichen Namen wider, die für die Cholinesterasen vorgeschlagen worden sind. Die Cholinesterase des Gehirns wird u.a. als e-Typ, als Acetylcholinesterase oder echte Cholinesterase, die Serumcholinesterase als s-Typ, Pseudocholinesterase oder unspezifische Cholinesterase bezeichnet. BERGMANN (1955) hält beide für Modifikationen desselben Enzymprinzips.

Biochemisch lassen sich die beiden Enzyme auf Grund ihrer verschiedenen Reaktionskinetik gegen Acetylcholin als Substrat trennen. Die Acetylcholinesterase hat ihre höchste Aktivität bei niedriger Acetylcholinkonzentration, während die Aktivität der Pseudocholinesterase mit zunehmender Substratkonzentration ansteigt. Weniger spezifisch ist die Differenzierung durch Inhibitoren und Aktivatoren, zum Beispiel durch die Hemmung der Cholinesterase mit DFP[X]. Dasselbe gilt für die Trennung durch verschiedene Substratspezifität. Die Acetylcholinesterase bevorzugt Cholinester mit kurzer Acylgruppe wie das Acetylcholin. Die Cholinesterase bevor-

[X] Diisopropylfluorophosphat

zugt Cholinester mit längerer Acylgruppe wie Butyrylcholin oder Benzoylcholin. Die Cholinesterasen spalten auch Bischolinester aliphatischer Dicarbonsäuren, Phosphatester des Cholins und Ester ohne Cholin wie Acetylneurin und Benzoylneurin.

HAUPTSTEIN (1932) und STRACK (1936) wiesen die Anwesenheit von Acetylcholin in der menschlichen Plazenta nach. WONG und CHANG (1932) lokalisierten das Acetylcholin histochemisch im Syncytium. Das zu diesem Substrat gehörende Enzym wurde von NAVRATIL (1939) und TORDA (1942) in der blutfreien Plazenta nachgewiesen. Damit konnte ausgeschlossen werden, daß die Enzymaktivität durch Blutreste verursacht sein könnte. Nach TORDA ist das Enzym fest an intrazelluläre Strukturen gebunden. ORD und THOMPSON (1950) prüften die Substratspezifität, das Verhalten gegen Inhibitoren und Aktivitoren und die Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Substratkonzentration. Ihre Befunde zeigten eindeutig, daß die menschliche Plazenta eine Acetylcholinesterase enthält. Die Plazentaacetylcholinesterase ist somit nicht identisch mit der Serumcholinesterase (WERLE und HARTMANN 1952), die im 2. und 3. Trimenon auf 79% der Normalwerte Nichtschwangerer gesenkt ist (PRITCHARD 1955). Die bei Ratten nachgewiesene Abhängigkeit der Serumcholinesterase vom Östrogenspiegel (SAWYER und EVERETT 1949) wurde beim Menschen nicht gefunden (BARNES und EPPERSON 1952). HERSCHBERG u.a. (1944) fanden die Serumcholinesterase bei Toxikose erniedrigt, was von PRITCHARD nicht bestätigt wurde. Auch über das Verhalten der Acetylcholinesterase der Plazenta bei Toxikose herrscht Uneinigkeit. HOFBAUER (1941) sowie WOODBURY und Mitarb. (1945) fanden bei Präeklampsie und bei Eklampsie erhöhte Werte, desgleichen BARNES (1952). WOODBURY gab zwei Deutungsmöglichkeiten. Entweder stelle die Erhöhung der Acetylcholinesteraseaktivität einen Schutzmechanismus oder aber einen die Präeklampsie fördernden Faktor dar. KYANK (1958) fand dagegen bei Toxikose keine veränderten Werte.

GOUTIER-PIROTTE und GEREBTZOFF (1955) untersuchten das Verhalten der Cholinesterasen in der Meerschweinchenplazenta histochemisch und biochemisch. Das oberflächliche Ektoderm der Plazenta und die Duval-Riesenzellen zeigten über die ganze Schwangerschaft eine Reaktion. Die Hauptlokalisation im Syncytium war je nach Alter veränderlich. Kurz vor der Geburt kam es zu einer Verschiebung der Aktivität vom Rand- und Interlobärsyncytium ins plazentare Labyrinth. Bei der Geburt wurde ein Teil der Acetylcholinesterase in das fetale Blut abgegeben. Die fetalen Erythrocyten zeigten daher auch einen Anstieg der Fermentaktivität vor der Entbindung und ein Maximum unter der Geburt. ZACKS und WISLOCKI (1953) versuchten mit histochemischer Methode eine Analyse der plazentaren Esterasen. Mit 6-Brom-2-naphthylacetat als Substrat erhielten sie eine intensive Reaktion im Syncytium und eine weniger starke Reaktion in den Langhanszellen. Diese Lokalisation erinnert an die der unspezifischen Esterasen. ZACKS und WISLOCKI (1953) glaubten, eine Pseudocholinesterase nachgewiesen zu haben, obwohl mit Eserin keine Hemmung zu erzielen war. PEROTTA und LEWIS (1958) bestätigten an der menschlichen Plazenta die Ergebnisse, die von GOUTIER-PIROTTE und GEREBTZOFF (1955) an der Meerschweinchenplazenta gefunden wurden. Bei der Untersuchung junger und reifer menschlicher Plazenten wiesen nur die reifen Plazenten in den Gefäßen eine Enzymaktivität auf. Diese wurde im Widerspruch zu den bekannten biochemischen Untersuchungsergebnissen als Pseudocholinesterase angesehen.

Die Funktion der Acetylcholinesterase ist nur im Nervensystem, nicht aber in der nervenlosen Plazenta geklärt. Die Spaltung und Synthese von Acetylcholin geht auf verschiedenen Wegen vor sich. Die Synthese erfolgt mittels der Cholinacetylase, Coenzym A und ATP über eine energiereiche Vorstufe, die im Nervensystem bei Erregung in das freie Acetylcholin übergeht. Da Cholinacetylaseaktivität auch in der menschlichen Plazenta gefunden wurde, ist hier ein ähnlicher Mechanismus anzunehmen. DASTUGUE und BAUDON (1960) vermuteten,

daß die Acetylcholinesterase eine wichtige Rolle im Transport noch nicht definierter Substanzen durch die Plazentaschranke spielt. BERGMANN und SEGAL (1955) wiesen darauf hin, daß alle Cholinesterasen sowohl in leitfähigem wie in nicht leitfähigem Gewebe als enzymatische Puffersysteme mit Cholinesterasen und deren Substrat als Puffersubstanzen wirken. GOUTIER-PIROTTE und GEREBTZOFF (1955) deuteten die Acetylcholinesterase in der Plazenta als Barriere zwischen kindlichem und mütterlichem Blut, die einen zu raschen Übergang des in der Plazenta synthetisierten Acetylcholins vermeidet. Möglicherweise liefert die Plazenta auch Acetylcholinesterase an den Feten, der es selbst noch nicht synthetisieren kann. Die Bedeutung der Abgabe des Enzyms in das fetale Blut unter der Geburt bleibt ungeklärt.

Eigene Untersuchungen

Die Cholinesterasen wurden mit zwei verschiedenen Methoden untersucht. Mit der Acetylthiocholin-Methode von GOMORI (1952) wurden 14 Plazenten (Nr.2, 5, 11, 16-18, 21-28 der Tabelle I) untersucht. Mit demselben Substrat Acetylthiocholin wurde die Methode nach KÖLLE-GEREBTZOFF (1953) an 11 Pla zenten (Nr.11, 16-18, 21-27 der Tabelle I) durchgeführt. Neben wenigen jungen Plazenten von Tubargraviditäten und Fehlgeburten überwiegen in dem Material die reifen Plazenten. Die Acetylcholinesterase spaltet Acetylthiocholin schneller als die Pseudocholinesterase. Theoretisch ist auch eine Spaltung durch die unspezifischen Esterasen möglich. Die Bedingungen dafür liegen jedoch sehr ungünstig. Um diese Möglichkeit ganz auszuschließen, wurde bei Kontrollversuchen mit Zusatz von 1% Mintacol inkubiert. Mintacol hemmt spezifisch die Cholinesterasen. Mit 10 Stunden bei der Methode nach GOMORI und 18 Stunden bei der Methode nach KÖLLE-GEREBTZOFF waren relativ lange Inkubationszeiten erforderlich.

Ergebnisse

a) GOMORI-Methode

Im Syncytium ist bei unreifen Plazenten eine mäßige Intensität der Reaktion vorhanden. Diese wird bei reifen Plazenten deutlich geringer oder vollständig negativ. Die Langhanszellen zeigen keine Reaktion.

Die Gefäße werden erst gegen Ende der Schwangerschaft positiv, so daß alle Plazenten vom Termin eine Aktivität in den Gefäßen aufweisen. Von der Reaktion der Gefäßwand selbst ist die der fetalen Erythrocyten im Gefäßlumen zu unterscheiden. Die Gefäßwand erscheint oft dreigeteilt: Endothel und Adventitia reagieren intensiv positiv, während die Muscularis dazwischen geringer aktiv ist.

Stroma und Hofbauerzellen sind in allen Fällen negativ.

b) Methode nach KÖLLE-GEREBTZOFF

Die Ergebnisse sind identisch mit denen, welche mit der GOMORI-Methode gefunden werden. Geringe Unterschiede ergeben sich nur in der Intensität der Reaktion. Bei Zusatz von 1% Mintacol zur Inkubationslösung wird die Reaktion vollständig gehemmt.

Diskussion

Die vollständige Hemmung der Reaktion durch Mintacol spricht dafür, daß mit den angewandten Methoden nur Cholinesterasen und keine unspezifischen Esterasen erfaßt wurden. Die weitere Differenzierung der Cholinesterasen ist histochemisch kaum möglich. Biochemische Ergebnisse sprechen aber eindeutig dafür, daß die menschliche Plazenta nicht die Serumcholinesterase sondern die Acetylcholinesterase besitzt. Die eigenen Befunde zeigen gewisse Parallelen mit den Ergebnissen von GOUTIER-PIROTTE und GEREBTZOFF (1955) an der Meerschweinchenplazenta. Bei unreifen Plazenten war die Reaktion im Syncytium lokalisiert, während bei reifen Plazenten die syncytiale Reaktion schwach und die Gefäßreaktion sta rk ausgeprägt waren. Ob

diese Aktivitätsverschiebung vom Syncytium in die Gefäße mit einer Enzymabgabe ins fetale Blut verbunden ist, kann mit histochemischen Methoden nicht festgestellt werden.

2) Phosphomonoester-Hydrolasen

a) Alkalische Phosphatase

Die unspezifischen alkalischen Phosphatasen haben eine weite Verbreitung im Tier- und Pflanzenreich. Sie stellen eine der bestuntersuchten Fermentgruppen dar. Über die Existenz dieses Enzyms in der Plazenta bestehen keine Zweifel. SEELICH und EHRLICH-GOMOLKA (1951) führten mit der Technik von Bodansky quantitative Bestimmungen in Plazenta und Fruchtwasser durch. Das Verhältnis der Aktivität von alkalischer zu saurer Phosphatase war jeweils 3:2. STARK und JUNG (1956) berichteten über die intrazelluläre Verteilung der alkalischen Phosphatase in der menschlichen Plazenta. Sie erhielten mit 91% eine sehr hohe Aktivität im Cytoplasma und in den Mikrosomen, 7% waren in den Mitochondrien und nur 2% der Aktivität in der Kernfraktion. Die Ergebnisse wurden von AHMED und KING (1959) bestätigt. In Plazenten von pathologischen Schwangerschaften waren diese Werte verändert (STARK und JUNG 1959, HUMKE 1963). Während die Aktivität im Cytoplasma geringer wurde, nahm sie in den Kernen und Mitochondrien beträchtlich zu.

Mit histochemischen Methoden wurde die alkalische Phosphatase wiederholt in der menschlichen Plazenta untersucht (DEMPSEY und WISLOCKI 1947, NEZELOF und ROUSSEL 1954, THOMSEN 1956 und 1958, GELLER 1957, Mc. KAY und Mitarb. 1958, LOBEL, DEANE, ROMNEY 1962, SZONTAGH und TRAUB 1962, WIELENGA und WILLIGHAGEN 1962, CURZEN 1964 und andere. Während frühere Untersucher ab der 8. Woche im Syncytiotrophoblasten eine positive Reaktion feststellten, deren Intensität bis zum Termin zunahm, fand THOMSEN (1956) einen Anstieg der Aktivität bis zur 30. Woche, anschließend wieder einen geringen Rückgang. Gleiche Resultate wie THOMSEN erzielte HARD (1946) bei quantitativen Untersu-

chungen von Meerschweinchenplazenten. BOTELLA-LLUSIA (1941) fand dagegen schon im 6.-7. Monat die höchste Aktivität.

THOMSEN (1956) erzielte an seinem umfangreichen Material folgende Ergebnisse: Eine positive Reaktion war immer nur im Syncytium nachzuweisen. Bei jungen Plazenten war vor allem der oberflächliche syncytiale Bürstensaum stark pigmentiert, während das übrige Cytoplasma erst im Laufe der Plazentareifung stärker positiv wurde. Charakteristisch für junge Plazenten war die ausgesprochen ungleichmäßige Verteilung der Aktivität. Intensiv pigmentierte Zotten wechselten mit völlig negativen Bezirken ab. Im 2. Trimester dehnte sich die Reaktion gleichmäßig auf alle Zotten aus. Bis zur 30. Woche nahm die syncytiale Aktivität zu, um dann zum Termin hin wieder deutlich abzufallen. Die Kerne des Syncytiums blieben immer negativ. Neben THOMSEN (1956) wiesen besonders Mc. KAY und Mita rb. (1958) auf das völlige Verschwinden der alkalischen Phosphatase aus vielen Zotten um die 10. Woche hin. Nur vereinzelt wurden Abweichungen der Lokalisation beobachtet. GELLER (1957) allein berichtete über eine Reaktion der Hofbauerzellen. Mc. KAY und Mitarb. (1955, 1958) sowie CURZEN (1964) konnten im 2. und 3. Trimester auch in Teilen des Cytotrophoblasten das Enzym nachweisen.

Während sich die Autoren darüber einig sind, daß im Serum normaler Schwangerer die Aktivität der alkalischen Phosphatase im letzten Trimester stark zunimmt (200-300% nach BECK und CLARK,1950), um nach der Geburt rasch wieder abzufallen, gehen die Meinungen über den Ursprung der vermehrten Enzymaktivität auseinander. BECK und CLARK (1950), STARK und JUNG (1956), WARONSKI und KUDLA (1961) sowie BOYER (1961) nahmen an, daß die Plazenta alkalische Phosphatase an das Blut abgibt. RICHTERICH (1958) brachte die erhöhte Serumaktivität mit der physiologischen Leberinsuffizienz in Zusammenhang, während VALVERDE (1955) als Ursprungsort den Uterusmuskel ansieht. MEADE und KOSALKI (1963) scheinen diese Frage entschieden zu haben. Mit

Hilfe der Elektrophorese trennten sie die alkalische Phosphatase im Serum in ihre Isoenzyme auf. Sie konnten nachweisen, daß die vermehrte Phosphatase identisch mit der alkalischen Phosphatase aus Knochengewebe ist. Die Erhöhung der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum scheint also im Zusammenhang mit dem Knochenwachstum des Feten zu stehen.

BRADFIELD (1950) kam zu dem Schluß, daß von der Funktion her gesehen die alkalische Phosphatase prinzipiell an drei Stellen zu erwarten ist:

1) Alkalische Phosphatase an Zellgrenzflächen, an denen aktive Transportvorgänge vorherrschen, wie bei der Resorption von Nährstoffen im Darmepithel, bei der Rückresorption von Glukose u.a. in den Nierentubuli sowie in verschiedenen exkretorischen Organen. Morphologisch und funktionell muß auch die Plazenta in diese Gruppe eingereiht werden. Bei Gültigkeit dieses physiologischen Prinzips wäre in der Plazenta eine Phosphataseaktivität im Syncytium zu erwarten.

2) Alkalische Phosphatase an Stellen normaler und abnormaler Verkalkung. Seit ROBINSON (1923) wird die alkalische Phosphatase mit der normalen Verknöcherung in Beziehung gebracht. In der Plazenta kann man an Degenerationsorten neben großen Glykogenmengen auch Calcium-Depots und hohe Aktivität alkalischer Phosphatase nachweisen (SNOECK 1958).

3) Alkalische Phosphatase an Stellen aktiven Nucleoproteinstoffwechsels. WILLMER (1942) konnte in Fibroblastenkulturen alkalische Phosphatase in den Chromosomen mitotischer Fibrobla sten nachweisen. Die Nucleoli sollen eine hohe Enzymaktivität aufweisen (BRADFIELD 1950). In der Plazenta zeigen die Ribonucleinsäuren und die alkalische Phosphatase in Lokalisation und Reaktionsstärke ein gegensätzliches Verhalten (SHIPUNOVA 1953, DEMPSEY und WISLOCKI 1945). Der hohe Gehalt an RNS im Syncytium der jungen Plazenta nimmt ab mit zunehmender Aktivität der alkalischen

Phosphatase. WISLOCKI und DEMPSEY (1945) nahmen an, daß die alkalische Phosphatase am Abbau der RNS beteiligt ist. Alkalische Phosphatase wird auch an den Bildungsorten fibrillärer Proteine gefunden, scheint aber nicht an der Synthese globulärer Proteine beteiligt zu sein (BRADFIELD 1950, RICHTERICH 1958).

In einer 4. Gruppe faßte RICHTERICH (1958) die zahlreichen positiven Phosphatasebefunde in Organen zusammen, in denen die Funktion des Enzyms ungeklärt ist.

THOMSEN (1956) lokalisierte histochemisch die stärkste Aktivität in den Epithelabschnitten, die als Grenzmembran fungieren. Aus dem Befund, daß die alkalische Phosphatase in reifen Plazenten in gleich starker Aktivität auch in Epithelabschnitten nachgewiesen werden kann, die nicht oder nur in geringem Ausmaß am Stofftransport beteiligt sind, zog er den Schluß, daß die alkalische Phosphatase außer der Transportfunktion noch andere Aufgaben besitzen muß. THOMSEN (1956) vermutete eine Beteiligung der alkalischen Phosphatase an der Hormonproduktion oder der Bildung ihrer Vorstufen. Die erhöhte Aktivität bei Spätgestosen könnte in Beziehung zu Störungen im Hormonhaushalt stehen. Auch Mc. KAY und Mitarb. (1961), ebenso HUMKE (1963) waren der Ansicht, daß die alkalische Phosphatase an der Synthese der Steroidhormone beteiligt ist, weil das Enzym in allen steroidhormonbildenden Zellen nachzuweisen war.

KYANK (1958) verglich die Aktivität der alkalischen Phosphatase in der Plazenta mit derjenigen in solchen Organen, die für Resorption und Ausscheidung von Nährstoffen bzw. Schlacken verantwortlich sind. Er sprach der alkalischen Phosphatase steuernde und regulierende Funktion im Stoffwechsel der Plazenta zu. Die alkalische Phosphatase im Syncytium der Plazenta liegt zwischen der Glukosequelle des mütterlichen Blutes und den fetalen Glykogendepots. Das Enzym könnte sowohl an der Resorption der Glukose wie

an der Dephosphorylierung von Hexose-6-phosphat, einem notwendigen Schritt bei der Bildung des Glykogens, beteiligt sein(WISLOCKI und DEMPSEY 1945). Die Autoren wiesen aber auch darauf hin, daß Hormone wie Thyroxin und Cortison die Aktivität der alkalischen Phosphatase vermindern, ohne die Glykogendepots zu verändern. STARK und JUNG (1956) faßten die vielfältigen Funktionen der alkalischen Phosphatase zusammen, indem sie deren Anwesenheit als Sinnbild der Zell- und Organfunktion betrachteten. Es sei aber nicht vergessen, daß kein definitiver Beweis für ein physiologisches Substrat vorliegt und die physiologische Rolle trotz vieler Theorien nicht geklärt ist (KYANK 1958).

Eigene Untersuchungen

Mit der Azokupplungsmethode nach PEARSE (1960) wurden 23 Plazenten (Nr. 1, 4, 6, 7, 9-20, 22, 23, 25-29 der Tabelle I) auf alkalische Phosphatase untersucht. In diesem Material sind die Plazenten von sechs Fehlgeburten, sieben Interruptiones, je einem Fall einer Tubargravidität, Mola ventosa, Präeklampsie und Eklampsie, vier Spontangeburten, davon zwei Übertragungen und eine Sectio enthalten. Mit Mononatriumnaphtylsulfat als Substrat wurde bei Zimmertemperatur von 22°C für 1 Stunde inkubiert. Bei längerer Inkubation nahmen zwar die unspezifischen Niederschläge und Artefaktbildungen zu, kaum aber die Intensität der Enzymreaktion. Vierzehn Plazenten wurden gleichzeitig mit der Metallsulfidoriginalmethode nach GOMORI (1939) untersucht.

Ergebnisse

Außer dem Syncytiotrophoblasten reagierten alle anderen Zottenstrukturen negativ. Schon die jungen Plazenten der 7. und 8. Woche zeigten im Syncytium eine deutliche Aktivität, die auf den oberflächlichen Bürstensaum beschränkt war. Besonders auffallend war, daß größere Zottenareale ohne Reaktion blieben und die positiven Zotten unregelmäs-

sig und wie fleckig über das Präparat verteilt waren. Der Anteil enzymaktiver Strukturen nahm mit fortschreitender Plazentareifung zu, desgleichen die Beteiligung des syncytialen Cytoplasmas. Gleichmäßige Aktivität in allen Zotten konnte erst nach der 15. Woche beobachtet werden. Dann zeigte bei weiterer Bevorzugung der syncytialen Oberfläche auch das Cytoplasma eine stärkere diffuse Aktivität. Die Kerne hingegen reagierten nicht. Bei reifen Plazenten am Termin war die Reaktion in den Zotten immer noch gleichmäßig positiv, aber doch deutlich geringer in der Intensität. Bei den zum Vergleich durchgeführten Untersuchungen mit der GOMORI-Methode zeigte sich bei grundsätzlich gleicher Lokalisation der Enzymaktivität im Syncytium ein Unterschied hinsichtlich des Aktivitätverlaufes während der Schwangerschaft. Deutlicher als mit der Methode nach PEARSE nahm die Aktivität im Verlauf der Schwangerschaft zu. Auch die Abschwächung der Reaktion am Termin war weniger ausgeprägt.

Diskussion

Die bekannte Lokalisation der alkalischen Phosphatase im Syncytium konnte bestätigt werden. Insbesondere stimmen die Ergebnisse in den Einzelheiten gut mit den Befunden THOMSENS (1956) überein, der bei jungen Plazenten eine auf den syncytialen Bürstensaum beschränkte Aktivität nur in einzelnen Zottenarealen beschrieb. Letztere Tatsache, daß bei jungen Plazenten nur einzelne Zotten reagierten, war besonders auffallend. Für die von GELLER (1957) beschriebene Aktivität der Hofbauerzellen sowie des Cytotrophoblasten nach Mc. KAY (1958) und CURZEN (1964) bot sich kein Anhalt.

b) Saure Phosphatase

Die saure Phosphatase gilt als typisches lysosomales Enzym (DE DUVE und Mitarb. 1955, NOVIKOFF 1961). DE DUVE versteht unter Lysosomen einen bestimmten Typ von Granula im Cytoplasma, deren Größe zwischen der von Mikroso-

men und Mitochondrien liegt. Die Lysosomen können untereinander in Größe, Struktur und Enzymgehalt verschieden sein. Lysosomen von Vertebraten sollen neben der sauren Phosphatase auch ß-Galaktosidase, ß-Glukuronidase und andere Enzyme enthalten. Viele Autoren sehen in dem Nachweis von saurer Phosphatase gleichzeitig den Nachweis von Lysosomen. Besonders reichlich sind Lysosomen in Zellen mit Verdauungsfunktion oder in autolytischen Zellen nachzuweisen (NOVIKOFF 1961). In den Lysosomen werden verschiedene Prozesse wie Abbau von Nukleinsäuren, Proteinen, Glykogen und Mukopolysacchariden vermutet.

Bei der Untersuchung der Zellfraktionen der menschlichen Plazenta (STARK und JUNG 1956, AHMED und KING 1959) wurde eine ähnliche Verteilung wie bei der alkalischen Phosphatase gefunden: 82% in Cytoplasma und Mikrosomen, 11% in den Mitochondrien und 3% in den Kernen (STARK und JUNG 1956). Die Lysosomen wurden dabei nicht als besondere Zellfraktion berücksichtigt. Ihre Aktivität wurde bei der Mikrosomen- und Mitochondrienfraktion mitgemessen. Im Endometrium wurde für die unspezifischen Phosphatasen ebenso wie für die 5-Nukleotidase ein "Sekretionszyklus" nachgewiesen (ATKINSON 1950), d.h. die Enzymaktivität zeigte zyklische Schwankungen parallel den Veränderungen des Steroidhormonspiegels im Serum. Über den Aktivitätsverlauf der sauren Phosphatase während der Plazentareifung liegen einheitliche Ergebnisse vor. THOMSEN (1958) fand das Maximum der Aktivität am Ende des 3. Monats und dann einen gleichmäßigen Abfall bis zum Termin. Diese histochemischen Untersuchungen wurden von Mc. KAY (1958) in einer quantitativen Fermentanalyse bestätigt. Auch LOBEL, DEANE und ROMNEY (1962) sowie KÖNIG (1964) kamen histochemisch zu demselben Resultat. In zahlreichen histochemischen Arbeiten wurden bezüglich der Fermentlokalisation teilweise unterschiedliche Ergebnisse mitgeteilt (WISLOCKI und DEMPSEY 1946, 1948, THOMSEN und NETZ 1955, RAUCH, ZENDER

und KÖSTLIN 1956, GELLER 1957, THOMSEN 1958, Mc. KAY und Mitarb. 1958, WIELENGA und WILLIGHAGEN 1962, LOBEL, DEANE und ROMNEY 1962, SZONTAGH und TRAUB 1962, STRAUSS und HIERSCHE 1963, CURZEN 1964). WISLOCKI und DEMPSEY (1946) fanden bei jungen Plazenten in einem Teil der Zotten eine geringe Reaktion im Stroma bei negativem Trophoblasten. Während die Aktivität im Stroma bald verschwand, wurde der Syncytiotrophoblast intensiv positiv, wobei die Kerne mitreagierten. Eine Reaktion im Stroma wurde später nur noch von WIELENGA und WILLIGHAGEN (1962) mitgeteilt, die in wechselnder Zahl positive Zellen im Stroma sahen. THOMSEN (1958) fand in unreifen Plazenten eine stark positive Reaktion im Syncytiotrophoblasten mit echter Aktivität der Kerne. Im Cytotrophoblasten konnte er das Ferment nicht nachweisen. Dem widersprachen die neueren Untersuchungen von LOBEL, DEANE und ROMNEY (1962), SZONTAGH und TRAUB (1962), WIELENGA und WILLIGHAGEN (1962) sowie CURZEN (1964), die alle im Cytotrophoblasten das Ferment lokalisieren konnten, wenn auch meist in geringer Intensität. THOMSEN und NETZ (1955) sowie GELLER (1957) beschäftigten sich besonders mit den Hofbauerzellen. Sie sahen auch bei reifen Plazenten Hofbauerzellen mit deutlicher Enzymaktivität. LOBEL, DEANE und ROMNEY (1962) sowie STRAUSS und HIERSCHE (1963) bestätigten den Gehalt an saurer Phosphatase in den Hofbauerzellen. THOMSEN (1958) betonte, daß die Hofbauerzellen ein konstanter Bestandteil auch reifer Organe darstellen, deren funktionelle Bedeutung durch den hohen Fermentgehalt unterstrichen wird. Nicht entschieden ist die Frage der Aktivität der syncytialen Kerne. Deren Aktivität wurde neuerdings von STRAUSS und HIERSCHE (1963) wieder angezweifelt.

Eigene Untersuchungen

An vierundzwanzig Plazenten (Nr. 1, 3, 4, 6-22, 25, 26, 28, 29 der Tabelle I) wurde eine Lokalisation der sauren Phosphatase mit der Azo-Simultankupplungsmethode nach GROGG und PEARSE (1952) durchgeführt. Mit Natrium-α-Naph-

thylphosphat als Substrat wurde bei einem pH 5,0 für 1 Stunde bei Zimmertemperatur inkubiert. Parallel dazu wurde bei zehn Plazenten (Nr. 4, 8, 11, 13, 15, 16, 19, 20, 29 der Tabelle I) auch die Bleinitratmethode nach GOMORI (1950) angewandt, die bei 37° C mit Na-ß-glyzerinphosphat als Substrat durchgeführt wurde. Nach einstündiger Inkubation erfolgte mit Ammoniumsulfid die Praezipitation von Bleisulfid als schwarzer Niederschlag an den Orten der Enzymaktivität.

Ergebnisse

Bei der Methode nach GROGG und PEARSE ist im Syncytiotrophoblasten die höchste Aktivität zu lokalisieren, doch ist die Reaktion im Cytotrophoblasten meist gleichwertig oder nur wenig geringer ausgeprägt. In beiden Schichten treten die Kerne deutlich heller hervor. Die syncytiale Oberfläche ist nicht in dem Maß wie bei der alkalischen Phosphatase bevorzugt, so daß der Hauptteil des Enzyms diffus im Cytoplasma verteilt scheint. Bis zur 15. Woche zeigen alle Plazenten eine hohe Aktivität, die bei reifen Plazenten geringer wird. Das Stroma vieler Plazenten ist eindeutig negativ. Unabhängig vom Alter der Plazenta ist aber in einigen Fällen auch eine mäßige Pigmentierung des Stromas zu beobachten, die teilweise an Stromazellen assoziiert ist. Möglicherweise handelt es sich auch um diffusionsbedingte Artefakte. Die Gefäße lassen nie eine Reaktion erkennen. Positive Hofbauerzellen sind fast in allen Fällen nachzuweisen, doch nie in der Häufigkeit und Intensität, wie man das in den Abbildungen von THOMSEN (1958) und GELLER (1957) sehen kann. Mit der GOMORI-Methode werden entsprechende Ergebnisse erzielt. Deutlicher ist hier die gegenüber der Langhansschicht stärkere Reaktion im Syncytium. Im Stroma sind wieder neben fleckig diffusen Arealen auch positive Bindegewebszellen zu finden.

Diskussion

Die Ergebnisse der verschiedenen Autoren sind bei der sauren Phosphatase weniger einheitlich als bei der alkalischen Phosphatase. Nur die Gefäße wurden von allen Autoren als negativ beschrieben. Auch in den eigenen Untersuchungen ließen sie keine Aktivität erkennen. Am besten stimmen die gewonnenen Ergebnisse mit denen von LOBEL, DEANE und ROMNEY (1962) überein, die zusammen mit anderen (s.o.) das Enzym im Syncytium und in der Langhansschicht lokalisierten und die mit THOMSEN (1958) sowie STRAUSS und HIERSCHE (1963) auch die Hofbauerzellen aktiv fanden. Dagegen gibt die Langhansschicht nach THOMSEN (1958) keine Reaktion. Die Zellkerne des Trophoblasten sind eher negativ. Ihre angedeutete Aktivität könnte ein diffusionsbedingter Artefakt sein. Dasselbe gilt für die vereinzelt feststellbare Pigmentierung im Stroma, die keine Beziehung zu Gewebsstrukturen erkennen läßt.

c) 5-Nukleotidase

Zu den Phosphomonesterasen mit engerem Spezifitätsbereich zählen unter anderen die spezifischen Nukleotidasen. 1937 berichtete REIS über das Vorkommen der 5-Nukleotidase in der Plazenta. Auf Grund der Beobachtungen von GOMORI (1949) sowie NEWMANN, FEIGIN, WOLF und KABAT (1950) darf angenommen werden, daß die 5-Nukleotidase mit der alkalischen Phosphatase verwandt ist. Die Abtrennung der 5-Nukleotidase von den unspezifischen Phosphatasen ist aber leicht möglich durch Vergleich der Aktivitäten zum Beispiel gegen ß-Glyzerophosphat und 5-Nukleotide, durch die verschiedenen pH - Optima ebenso wie durch Inhibitoren und Aktivatoren. Die Nukleotidasen verschiedener Organe benötigen Magnesium - Ionen zur Aktivierung des Fermentes. Eine Ausnahme macht die 5-Nukleotidase der Plazenta, die durch Mg^{++} nicht, durch Manganionen aber stark aktiviert wird. Physiologische Inhibitoren der 5-Nukleotidase stellen die Spaltprodukte selbst, die Nukleoside

dar. Auf diese Art könnte die Zelle die Fermentaktivität selbst steuern. HEPPEL und HILLMOE (1951) gelang eine 50-fache Anreicherung der 5-Nukleotidase des Stierspermas. Dieses Präparat spaltete beim pH - Optimum pH 8,5 und nach Aktivierung mit Magnesiumionen die Nukleotide AMP, IMP und UMP, ferner Nicotinsäureamidnukleotid sowie Ribose-5-phosphat. SIEBERT (1966) gab an, daß die 5-Nukleotidase auch Aktivität gegen Nukleosid-5-triphosphate entwickelt. Damit gewinnt dieses Ferment für den Nukleinsäurestoffwechsel entscheidende Bedeutung.

Nach WACHSTEIN und MEISEL (1952) zeigte sich die 5-Nukleotidaseaktivität besonders im Cytoplasma der kleinen Muskelfasern, in den interstitiellen Fibroblasten und in der Wand arterieller Gefäße. ALLFREY u.a. (1952) untersuchten die Leber verschiedener Tiere auf alkalische Phosphatase und Nukleotidase. Die 5-Nukleotidaseaktivität der Kerne war dabei niedrig oder ganz negativ. Die Hauptmenge der Aktivität lag partikelgebunden im Cytoplasma. AHMED und KING (1959) untersuchten Plazentahomogenate mit der Differenzialzentrifuge. Sie fanden 35% der Aktivität in den Mikrosomen, 22% in den Mitochondrien, nur 2% in den Kernen und den Rest diffus im Cytoplasma und in den Zelltrümmern verteilt. NOVIKOFF (1953) sowie SEGAL und BRENNER (1960) bestätigten die hohe mikrosomale Aktivität bei Untersuchungen der Leber. Grundlegende histochemische Untersuchungen wurden von THOMSEN und PANKA (1956) durchgeführt. In Lokalisation und Aktivitätsverlauf ergaben sich deutliche Parallelen zu der unspezifischen alkalischen Phosphatase. Wie dort reagierte das Syncytium zuerst an der Oberfläche, dann im ganzen Plasmaleib, aber auch in den Kernen positiv. Die Aktivität nahm bis zum 8. Monat zu und blieb dann konstant. Wie bei den unspezifischen Phosphatasen blieben die Langhanszellen negativ. Im Gegensatz zur Reaktion auf saure und alkalische Phosphatase ergab sich in den Kernen des Zotten-

stromas und in den Gefäßendothelien der Zottenkapillaren sowie in den Arterien und Venen reiferer Plazenten eine positive Nukleotidasereaktion. THOMSEN schloß aus seinen Befunden, daß sowohl Syncytium als auch Fibroblasten sowie Gefäßwände und Kapillarendothelien am Nukleinsäure- und Eiweißstoffwechsel beteiligt sind. Mc. KAY u.a. (1958) sowie WIELENGA und WILLIGHAGEN (1962) bestätigten diese Befunde. Mc. KAY fand aber zusätzlich eine Aktivität der Cytotrophoblastzellsäulen und des Cytotrohoblasten der Plazentarsepten. Bei längerer Inkubation reagierten die Gefäße schon in der 6. Woche positiv. MAYER, PANIGEL und LECLERC-POLYAK (1959) wiesen auf die Aktivität in den Kernen, besonders im Nukleolus hin. Auch die Kerne der Langhansschicht traten deutlich positiv hervor. Im Gegensatz dazu standen die Untersuchungen von WACHSTEIN, MEAGHER und ORTIZ (1963), die keine Kernaktivität beschrieben. Sie ließen die Frage offen, ob die Kernaktivität echt oder artifiziell ist. Von allen Untersuchern fanden WACHSTEIN und Mitarb. (1963) die deutlichste Reaktion im Cytotrophoblasten.

Eigene Untersuchungen

Die Schwierigkeiten bei der histochemischen Darstellung der 5-Nukleotidase liegen in der Abgrenzung der Aktivität von der unspezifischen alkalischen Phosphatase. GOMORI (1952) empfahl die Inkubation von Vergleichsschnitten mit ß-Glyzerophosphat als Substrat. BARKA und ANDERSON (1963) hielten die Methode nach WACHSTEIN und MEISEL (1952) für die bisher beste. Als Substrat dient hierbei Adenosin-5-phosphat. Die freigesetzten Phosphationen wurden in älteren Methoden mit Calcium gefällt, was Schwierigkeiten durch Diffusion des Calciumphospnates und Hemmung des Enzyms durch hohe Ca - konzentrationen mit sich brachte. WACHSTEIN und MEISEL führten die Fällung mit Bleisalzen zu unlöslichem Bleiphosphat ein. Während mit der Ca - Phosphat - Methode die Kerne immer positiv schienen,

blieben diese bei der neuen Methode negativ.

Mit der Methode von WACHSTEIN und MEISEL (1952) wurden zwanzig Plazenten (Nr. 1, 3, 4, 6-16, 20-24, 27 und 29 der Tabelle I) auf 5-Nukleotidaseaktivität untersucht. Bei 37°C wurde für 2 Stunden inkubiert. Bei dem gewählten pH von 7,2 ist der Einfluß der alkalischen Phosphatase weitgehend zurückgedrängt. Kontrollen wurden durch Inaktivierung des Fermentes mit Trichloracetat sowie durch Inkubation ohne Substrat durchgeführt.

Ergebnisse

Der Syncytiotrohoblast zeigt in allen untersuchten Plazenten eine ausgeprägte Farbreaktion. Bei schwächerer Intensität beschränkt sich die Reaktion auf einen schmalen, oberflächlichen Saum. Mit zunehmender Intensität wird das ganze Cytoplasma gleichmäßig positiv. Ein drittes charakteristisches Bild ist durch starke, oberflächliche und basale Reaktion mit dazwischen liegender hellerer Kernzone gekennzeichnet. Die Intensität der Reaktion bleibt im 2. und 3. Trimester gleichmäßig hoch und nimmt erst am Termin wieder ab.

Der Cytotrophoblast weist eine unregelmäßige Reaktion auf. Neben Plazenten mit negativer Reaktion sind geringe und diffuse Anfärbungen zu sehen, die durch Diffusion verursacht sein könnten. Es finden sich aber auch deutlich positive Reaktionen, wobei charakteristischerweise die Kerne besonders intensiv angefärbt sind. Hierin besteht ein Unterschied zum Syncytium, dessen Kerne meist weniger stark reagieren als das Cytoplasma.

Für die Nukleotidasereaktion im Stroma sind die positiven Fibrocyten kennzeichnend, deren Kerne immer mit angefärbt sind. In einigen Fällen ist das Stroma auch negativ.

Deutlich ausgeprägt ist auch die Reaktion der Gefäße, die mit fortschreitender Reifung der Plazenta intensiver wird und wie im Syncytium am Termin gering zurückgeht. Die Endothelien sind stark positiv, während die übrigen

Schichten der Gefäßwand nur schwach mitreagieren. Positiv sind immer auch die Endothelien der Kapillaren.

Die Hofbauerzellen geben meist eine gute Reaktion. Die Abgrenzung von den positiven Fibrocyten ist aber nicht immer leicht, so daß hier Verwechslungen nicht unmöglich sind. In diesem Zusammenhang sei daran erinnert, daß nach BERGMANN und KNOOP (1959) die Hofbauerzellen nur besondere Funktionszustände der Histiocyten darstellen und eine Unterscheidung nicht immer möglich ist.

(Siehe auch Abbildung 1, Seite 88).

Diskussion

Die Ergebnisse stimmen mit denen anderer Untersucher überein. Die Frage nach der Aktivität der Langhanszellen konnte nicht klar entschieden werden. Die vorliegenden Untersuchungen sprechen eher für eine Aktivität, die besonders in den Kernen ausgeprägt ist. THOMSEN wies darauf hin, daß die von ihm gefundene Aktivität der Kerne im Syncytium wenigstens zum Teil echt und nicht nur ein Artefakt der Calcium-Phosphat - Methode ist. Mit der hier angewandten Bleiphosphat - Methode war ebenfalls eine Kernreaktion im Syncytium festzustellen, wenn auch schwächer als im Cytoplasma. Im Syncytium bot sich das gleiche Bild wie bei der alkalischen Phosphatase, nur mit gleichmäßigerer Reaktion. Inwieweit hier die alkalische Phoshatase mitgewirkt hat, ist schwer zu entscheiden. Eindeutig durch eine Nukleotidase verursacht sind aber die Reaktionen der phosphatasenegativen Gefäße und Kapillaren sowie des Stromas. Die Phosphatase besitzt auch keine Aktivität in den Trophoblastkernen.

d) Glucose-6-phosphatase

Das Substrat Glukose-6-phosphat kann von den unspezifischen alkalischen und sauren Phosphatasen gespalten werden (BARKA und ANDERSON 1963). FANTAL und ROME (1945) machten es wahrscheinlich, daß es außerdem ein für dieses

Substrat spezifisches Enzym gibt, die Glucose-6-phosphatase. Sie läßt sich gut von der unspezifischen Phosphatase unterscheiden. Das pH - Optimum liegt mit einem pH von 6,5 in einem Bereich, in dem die unspezifischen Phosphatasen nur wenig wirksam sind. Das Enzym wird leicht durch Hitze inaktiviert und ist sehr empfindlich gegen Säure. Als metallischer Cofaktor wirkt das Calcium. Die Hemmung des Enzyms durch p-Chlormercuribenzoat und die Aktivierung durch Cystein ($2,5 \times 10^{-3}$mol) weist auf die Beteiligung aktiver SH-Gruppen hin (HERMAN und PADYKULA 1956). Phlorizin hemmt nur die Glucose-6-phosphatase, nicht die unspezifische Phosphatase (CORI 1953). Biochemische Untersuchungen ergaben übereinstimmend eine Lokalisation des Enzyms in den Mikrosomen (HERS u.a. 1951, DUVE und BERTHET 1954, STETTEN und TAFT 1964). Die Glucose-6-phosphatase konnte nur in den Nierentubuli, in den Leberzellen, in der Schleimhaut des Dünndarms und auch in der Plazenta nachgewiesen werden. Diese Verteilung unterstreicht die Funktion des Enzyms im Glucosestoffwechsel, die nach CORI (1953) in der Freisetzung von Glucose ins Blut besteht. Dieser Vorgang spielt nicht nur in der Leber eine Rolle, sondern auch bei der Resorption bzw. Rückresorption von Glucose im Darm und in der Niere. ASHMORE und WEBER (1959) vermuteten eine transphosphorylierende Wirkung der Glucose-6-phosphatase, die von wesentlicher Bedeutung für den Glykogenstoffwechsel ist. Das Fehlen dieses Enzyms in der Leber ist die Ursache der von Gierkeschen Glykogenspeicherkrankheit.

In eingehenden biochemischen Untersuchungen der mikrosomalen Glucose-6-phosphatase aus Leber und Niere der Ratte entdeckten NORDLIE und ARION (1964) sowie STETTEN und TAFT (1964) die multiple Spezifität dieses Enzyms. Das Enzympräparat hatte nicht nur die Fähigkeit einer Glucose-6-phosphatase, sondern auch die einer Pyrophosphatase, einer Pyrophosphat-Glucose-6-phosphotransferase sowie einer Mannose-6-phosphat-Glucose-6-phosphotransferase. Alle vier Vorgänge wurden vom gleichen Enzym katalysiert, dessen

Identität auch durch klinische Untersuchungen wahrscheinlich gemacht wurde.

Die Plazenta nimmt im fetalen Kohlehydratstoffwechsel eine zentrale Rolle ein. Sie hat nicht nur die Aufgabe der Glucoseresorption aus dem mütterlichen Blut, sondern wirkt auch als fetales Glykogendepot, solange die kindliche Leber dazu noch nicht in der Lage ist. Die Plazenta müßte daher auch die entsprechende Enzymausstattung besitzen. DUVE (1949) und SWANSON (1950) gelang der Nachweis der Glucose-6-phosphatase in der Plazenta. VILLEE (1953) fand nur in jungen Plazenten eine aktive Glucose-6-phosphatase. Reife Plazenten zeigten keine Aktivität. Ein histochemischer Nachweis der Glucose-6-phosphatase wurde 1963 von WACHSTEIN, MEAGHER und ORTIZ versucht. In unfixierten Gefrierschnitten an menschlichen Plazenten reagierte das Syncytium und bei längerer Inkubation auch der Cytotrophoblast positiv. Da die Reaktion aber nach Inaktivierung mit kaltem Formalin positiv blieb, glaubten WACHSTEIN und Mitarb., nur eine unspezifische Phosphatase nachgewiesen zu haben.

CURZEN (1964) untersuchte menschliche Plazenten nach der Methode von CHIQUOINE (1953) und fand gleichfalls eine mäßige Aktivität der Glucose-6-phosphatase oberflächlich im Syncytium lokalisiert. Die Aktivität war bei reifen Plazenten höher und stieg bei Toxikosen früher an. Diese Befunde gleichen denen bei der alkalischen Phosphatase. Die Spezifität der Reaktion bleibt ungeklärt.

Eigene Untersuchungen

CHIQUOINE entwickelte 1953 eine Methode zum histochemischen Nachweis der Glucose-6-phosphatase. Als Substrat verwendete er Kalium-Glucose-6-phosphat, das er aus Barium-Glucose-6-phosphat und K_2SO_4 gewann. Nach der Hydrolyse erfolgte die Praezipitation des Hydrolyseproduktes durch Bleinitrat. Mit Ammoniumsulfid entstand dann Bleisulfid als sichtbarer Niederschlag am Ort der Fer-

mentaktivität. Die unspezifischen Phosphatasen greifen das Substrat der Glucose-6-phosphatase ebenfalls an. Ihre Aktivität kann sich aber bei dem für die Inkubation gewählten pH von 6,5 - 6,7 und der kurzen Inkubationszeit von 30 - 60 Minuten nur wenig auswirken. Die Reaktion läßt sich ferner durch Fixation der Schnitte mit 10% Formalin für eine Stunde oder durch Hemmung des Enzyms mit Phlorizin kontrollieren. Ebenso bewirkt $CuSO_4$ ($4x10^{-3}$mol) eine spezifische Hemmung der Glucose-6-phoshatase. Neunzehn Plazenten (Nr. 2, 5-8, 10, 12-15, 20, 22, 29 der Tabelle I) wurden mit obiger Methode untersucht.

Ergebnisse

Im Syncytiotrophoblasten ist bei allen Altersstufen eine gleichbleibende mittlere Aktivität festzustellen. Die Lokalisation erinnert an die der alkalischen Phosphatase. Bei beiden Reaktionen ist die syncytiale Oberfläche der bevorzugte Ort der Enzymaktivität. Deutlich geringer reagiert das syncytiale Cytoplasma, noch weniger der Kern. Eine Ausnahme machen drei Plazenten aus der 11., 14. und 15. Woche, bei denen das Syncytium nur basal pigmentiert ist.

Cytotrophoblast, Stroma und Hofbauerzellen lassen keine Reaktion erkennen. Lediglich die Gefäße reifer Plazenten weisen eine mäßige Aktivität auf.

Durch $CuSO_4$ ($4x10^{-3}$mol) wurde die Reaktion deutlich gehemmt. (Siehe auch Abbildung 2, Seite 88).

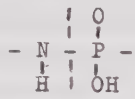
Diskussion

Die Lokalisation des Enzyms im syncytialen Bürstensaum mit geringer Cytoplasmabeteiligung und negativer Kernreaktion entspricht genau den Befunden bei der alkalischen Phosphatase. Andererseits zeigt die alkalische Phosphatase nie Gefäßaktivität und die Reaktionsbedingungen ließen eine Mitwirkung der alkalischen Phosphatase kaum zu. Die Hemmung der Reaktion durch Kupfersulfat spricht ebenfalls

für einen spezifischen Nachweis für Glucose-6-phosphatase. Fast gleiche Lokalisation beider Enzyme kann durch ihre funktionelle Verwandtschaft erklärt werden.

e) Phoshoamidase

Phosphoamidasen spalten die Bindung zwischen dem Orthophosphat-Radikal und einer Aminogruppe:



Physiologische Substrate sind Kreatinphosphat und Argininphosphat, energiereiche Verbindungen, die leicht spontan zerfallen. Nach HOLTER und LI (1951) ist die Phosphoamidase identisch mit den Phosphoprotein-Phosphatasen, die Phosphoproteine wie Casein und Phosvitin dephosphorylieren. SINGER und FRUTON (1957) bestätigten diese Befunde. Sie konnten das Enzym aus Rindermilz 50-fach anreichern und beseitigten so die Zweifel über die Existenz dieses Enzyms.

ROCHE (1950) sowie HOLTER und LI (1951) fanden zwei Enzyme, von denen das eine sein pH-Optimum im alkalischen Bereich bei pH 9-10 hat. Das andere reagierte maximal bei saurem pH. Für das letztere entwickelte GOMORI (1948) eine Methode zum histochemischen Nachweis. Die Ergebnisse waren aber unbefriedigend. GOMORI (1948) fand die intensivsten Reaktionen in der grauen Substanz des Zentralnervensystems und in malignen Tumoren. Besonders eingehend wurden die Tumoren des weiblichen Genitaltraktes studiert. STOLL, EBNER und STRECKER (1951) wiesen eine stärkere Reaktion bei praecancerösen Portioveränderungen und bei infiltrierend wachsenden Carcinomzellen nach. NEUMANN, OEHLERT und HAUSMANN (1954) konnten in den Zellen von Vaginalabstrichen bei Carcinom eine hohe Aktivität feststellen. In der Plazenta wurde das Ferment bisher nicht untersucht.

Eigene Untersuchungen

MEYER und WEINMANN (1955) verbesserten die von GOMORI (1948) entwickelte Methode. Trotzdem blieben die Ergebnisse unbefriedigend. Lange Inkubationszeiten verursachten Spontanhydrolyse und falsche Lokalisation. Unspezifische Niederschläge mußten anschließend durch Differenzierung mit Zitronensaurepuffer herausgelöst werden. Dabei bestand die Gefahr, daß bei zu kurzer Differenzierung Artefakte bestehen blieben oder nach zu langer Differenzierung echte Enzymaktivität nicht mehr zu sehen war. Trotz dieser Bedenken wurde der Versuch unternommen, eine Phosphoamidase mit der Methode nach MEYER und WEINMANN (1955) darzustellen. Als Substrat wurde p-Chloranilidophosphorsäure benutzt. Bei 42°C wurde für 4 bis zu 8 Stunden inkubiert, wobei die Objektträger mit dem Präparat nach unten auf Glasstaben eingelegt wurden, um stärkere Ablagerungen unspezifischer Niederschläge zu vermeiden. Unter den zwanzig untersuchten Plazenten (Nr. 1, 3, 4, 5, 6, 7, 9-13, 16-21, 23, 24, 27 der Tabelle I) waren sechs Fälle von Interruptio, acht Fehlgeburten, darunter zwei bei Tubargravidität, vier Spontangeburten und je ein Fall von Präeklampsie und Mola ventosa vertreten.

Ergebnisse

Eine Phosphoamidaseaktivität kann nur im Trophoblasten lokalisiert werden. Alle anderen Zottenstrukturen bleiben negativ. Zum Teil sind Syncytium und Langhansschicht gleich stark angefärbt, teilweise treten auch oberflächliche und basale syncytiale Strukturen durch vermehrte Pigmentierung hervor. Die Kerne der Tropnoblastzellen besitzen keine Phosphoamidaseaktivität.

Diskussion

Die Versuche verliefen unbefriedigend. Viele Schnitte wurden während der langen Inkubationszeit abgelöst oder zerfielen bei der Nachbehandlung. Starke unspezifische

Niederschläge erschwerten oft die Beurteilung, so daß wenige Präparate mit guter Lokalisation übrigblieben. Die mitgeteilten Ergebnisse sind daher nur mit Vorbehalten zu verwerten.

Bei positiver Reaktion fiel andererseits auf, daß die Farbstoffgranula in stärkerer Intensität streng auf den Trophoblasten beschränkt waren. Die Kerne des Trophoblasten konnten außerdem durch fehlende Pigmentierung deutlich abgegrenzt werden. Beide Tatsachen sprechen für einen spezifischen Nachweis.

3) Schwefelsäureester-Hydrolasen

Arylsulfatase

Die spezifischen Substrate der Arylsulfatase, eines der Enzyme aus der Gruppe der Sulfatasen, sind Ester der Schwefelsäure mit aromatischen (z.B. Phenol) und heterozyklischen (Indol) Hydroxylverbindungen. Durch biochemische Untersuchungen wurde die Arylsulfatase bei Säugern auf Grund ihrer verschiedenen relativen Substratspezifität (gegen p-Acetylphenylphosphat und p-Nitrophenylphosphat) und dem verschiedenen Verhalten gegen Inhibitoren (Cyanid, Sulfationen, Phosphationen) weiter unterteilt. ROY (1954) wies drei Typen nach, während DODGSON (1957) nur zwei Typen unterschied. Typ 1 nach DODGSON kommt nur in den Mikrosomen vor, während Typ 2 vorwiegend in den Mitochondrien lokalisiert ist. Diese Mitochondriensulfatase wurde von ROY (1954) auf Grund verschiedener Löslichkeit elektrophoretisch in zwei Typen, A und B, getrennt. Typ A zeigt ein bemerkenswertes kinetisches Verhalten, da die Aktivität und die Enzymkonzentration nicht parallel gehen (DODGSON und SPENCER 1957). Alle drei Typen wurden in der Ochsenleber (ROY 1953), in der Rattenleber (ROY 1955) und in der Leber des Menschen (DODGSON 1956) nachgewiesen.

Bei verschiedenen biochemischen Untersuchungen (HERS

1951, DODGSON 1953, ROY 1954, GIANETTO und VIALA 1955) an Rattenlebern wurde immer eine niedrige Kernaktivität (6-15%) und eine hohe Aktivität in den Mikrosomen und Mitochondrien gemessen. Aus histochemischen Untersuchungen tierischer und menschlicher Organe (SELIGMAN 1950, RUTENBURG 1952, HAYASHI 1957) ergab sich übereinstimmend eine Bevorzugung der Epithelien mit starker Cytoplasmareaktion und geringer Kernaktivität.

Über die Arylsulfatase in der Plazenta liegen biochemische Ergebnisse vor. RUFFO, ROMANO, GIAMPOLO (1953), BIANCHI (1955) und BIANCHI und VALLI (1955) fanden in Extrakten reifer Plazenten durchschnittlich 337 Enzymeinheiten/g Trockengewicht, bei Sectioplazenten 256 E und bei Toxikoseplazenten 254 E. Die von PULKKINEN (1958) gefundenen Werte in der reifen Plazenta lagen höher. Alle Autoren stellten eine zunehmende Aktivität im Verlauf der Schwangerschaft fest. Nach PULKKINEN hat die Arylsulfatase Beziehungen zur ß-Glukuronidase. Beide sind im proliferierenden Gewebe vermehrt aktiv. Im Endometrium verläuft die Aktivitätskurve dieser Enzyme parallel zur Höhe des Östrogenspiegels. Auch in der intrazellulären Lokalisation lassen sich zyklische Veränderungen feststellen.

PULKKINEN (1958) glaubte, daß die Arylsulfatase eine wichtige allgemeine und weniger eine organspezifische Funktion besitzt. Als Gründe für diese Annahme führte er die Lokalisation in vielen Organen, die Aktivitätszunahme bei wachsenden Organismen und Tumoren und die hohe Konzentration in der steroidproduzierenden Plazenta an. Plazentahomogenate können Östrogensulfat spalten (PULKKINEN 1958). Da die stereochemische Spezifität der Arylsulfatasen nur eine relative ist (AMMON und DIRSCHERL 1959), könnte diese Spaltung nicht nur von Steroidsulfatasen sondern zum Teil auch durch Arylsulfatasen katalysiert werden. Die Arylsulfatasen sollen bei Hydrolyse und Synthese mitwirken, wobei die Synthese

nicht einfach eine Umkehr der Hydrolyse darstellt, sondern nach PULKKINEN (1958) über die Bildung aktiver Sulfate verläuft. Solche aktive Sulfate könnten dann unter Mitwirkung der Arylsulfatasen auf Substanzen wie Steroide und Phenole übertragen werden wobei Östrogensulfat mehr als Stoffwechselform denn als Ausscheidungsform zu betrachten ist. Auf Grund der bei Toxikose erniedrigten Enzymaktivität in der Plazenta vermutete BIANCHI (1955) eine Beziehung der Arylsulfatase zum Stoffwechsel blutdrucksteigernder Amine. Histochemische Untersuchungen über die Arylsulfatase in der menschlichen Plazenta liegen bisher nicht vor.

Eigene Untersuchungen

Die Arylsulfatase wurde an vierundzwanzig Plazenten (Nr. 1, 3, 4, 6-22, 25, 26, 28 und 29 der Tabelle I) untersucht. Von den zahlreichen histochemischen Methoden zum Nachweis der Arylsulfatasen ist keine ganz befriedigend. Die eigenen Untersuchungen wurden mit der zweizeitigen Azofarbstoffkupplungsreaktion nach RUTENBURG, COHEN und SELIGMAN (1952) vorgenommen. Um die Diffusion des löslichen Enzyms zu hemmen, wurde ein durch NaCl - Zusatz hypertonisches Inkubationsmedium benutzt. Die hohe Aktivität in der Plazenta erforderte nur eine Inkubationszeit von 2 Stunden. Bei der nachfolgenden Kupplungsreaktion entstand an Stellen hoher Aktivität ein blauer Farbstoff, an weniger aktiven Stellen ein roter Farbstoff. In der Literatur lagen keine Angaben über die Spezifität der Reaktion in Bezug auf die 3 Typen der Arylsulfatase vor.

Ergebnisse

Trophoblast: In der Aktivität von Syncytium und Langhansschicht lassen sich keine Unterschiede erkennen. Beide Schichten zeigen von der 9. bis zur 36. Woche eine intensive Reaktion, während die Aktivität in der 7. und 8. Woche sowie am Termin etwas geringer, aber doch

deutlich ausgeprägt ist. Bei stärkerer Vergrößerung kann man deutlich eine wabige Struktur erkennen, die durch die negativen oder nur schwach positiven Kerne verursacht wird. Die Aktivität ist gleichmäßig im Cytoplasma lokalisiert, ohne Bevorzugung oberflächlicher oder basaler Strukturen.

Das Zottenstroma ist in allen Plazenten schwach tingiert. Die Farbstoffgranula sind diffus verteilt, zum Teil an Stromazellen gebunden.

Die großen Gefäße junger Plazenten haben eine angedeutete Reaktion in der Intima. Diese Reaktion erfaßt ab der 13. Woche zunehmend kleinere Gefäße mit stärkerem Farbstoffniederschlag in der Intima und schwächerem in der Media, bis dann gegen Ende der Schwangerschaft auch die Kapillarendothelien positiv reagieren.

Hofbauerzellen sind in jungen Plazenten nur unsicher zu lokalisieren, zeigen aber ab der 13. Woche regelmäßig eine schwache Aktivität.

Kontrollen wurden mit inaktivierten Schnitten durchgeführt. Einwirkung von Trichloracetat (5 Minuten) ergab eine vollständig negative Reaktion, während nach Inaktivierung mit Lugol nur eine deutliche Abschwächung der Reaktion erkennbar war.

(Siehe auch Abbildung Nr. 3, Seite 88)

Diskussion

Die Arylsulfatase ist in der menschlichen Plazenta mit hoher Aktivität im Trophoblasten und geringer im Stroma, in den Hofbauerzellen und in den Gefäßen lokalisiert. Im Trophoblasten sind die Zellkerne durch ihre fehlende Pigmentierung gut abzugrenzen. Bei stärkerer Enzymdiffusion waren diese Strukturen verwischt. Die fehlende Kernreaktion und die hohe Aktivität im Cytoplasma stimmt mit den Befunden histochemischer Untersuchungen an anderen tierischen und menschlichen Organen überein. Nach biochemischen Untersuchungen ist diese cytoplasmatische Aktivität in der menschlichen Leber an die Mikrosomen und Mitochondrien gebunden (DODGSON 1956).

4) Glykosid-Hydrolasen

ß-D-Galaktosidase

Pflanzliche Fermentquellen der ß-D- Galaktosidase sind unter anderen Luzernesamen, Sojabohnen und Kaffee. Im Tierreich wurde eine hohe Aktivität dieses Enzyms besonders im Genitaltrakt der Ratte und der Maus gefunden (CONCHIE 1959). WALLENFELS (1959) stellte das Enzym aus E. coli gereinigt dar. Die natürlichen Substrate der ß-D-Galaktosidase sind ß-Hetero-Galaktoside wie Laktose, Allolaktose und Laktobionsäure, ferner Cerebroside und Aminozucker. Abgespaltene ß-Galaktosylreste kann die ß-D-Galaktosidase entweder auf Wasser oder auf ein zweites Zuckermolekül übertragen. In letzterem Fall können auf diese Weise durch einfache Transgalaktosylierung Di- und Oligosaccharide entstehen. Daß die ß-D-Galaktosidase sowohl als einfache Hydrolase wie auch als Transferase und Synthetase wirken kann, wurde von WALLENFELS (1959) an dem Enzympräparat aus Colibakterien eindeutig bewiesen. Eine Mitwirkung bei der Synthese des Milchzuckers ist aber unwahrscheinlich (AMMON und DIRSCHERL 1959). LEVY und CONCHIE (1964) fanden in biochemischen Untersuchungen der Rattenleber 50-60% der Enzymaktivität in der Mitochondrienfraktion. CONCHIE und HAY (1963) faßten die ß-D-Galaktosidase als lysosomales Enzym auf. Die Lysosomen bilden nach der Theorie von DE DUVE (1959) eine Gruppe enzymatisch gleichartig ausgestatteter Granula. Die hydrolytischen Enzyme dieser Granula sind strukturgebunden und werden nur aktiv, wenn die Zelle geschädigt wird oder abstirbt. Als typisches lysosomales Enzym gilt die saure Phosphatase. LEVY und CONCHIE (1964) nahmen deshalb an, daß die lysosomalen Enzyme eine einheitliche katabolische oder autolytische Funktion in der Zelle haben.

An der ß-D-Galaktosidase kann die sogenannte Fermentinduktion beobachtet werden. Verschiedene Substrate induzieren z.B. bei E. coli isodyname Galaktosidasen, die nur

serologisch getrennt werden können. Ein weiteres interessantes Phänomen beobachteten CONCHIE und Mitarb. (1959). Sie entdeckten, daß für alle Glykosidasen spezifische Inhibitoren in Form der Aldonolaktone der abgespaltenen Zuckerkomponente existieren. Erhöhte Fermentaktivität würde sich auf diese Weise selbst begrenzen. Damit wäre eine Kontrolle physiologischer und pathologischer Prozesse gegeben. An der Rattenepididymis fand CONCHIE (1959) schließlich eine Abhängigkeit der Glykosidasen von den Geschlechtshormonen, indem die geschlechtliche Entwicklung mit einer Zunahme der Glykosidasen einherging.

In der menschlichen Plazenta wurde von HONJO (1957) eine Laktase nachgewiesen, welche ß-Laktose besser als α-Laktose hydrolysierte und durch NaCl und $CaCl_2$ aktiviert wurde. Histochemisch wurde Plazentagewebe bisher nicht untersucht.

Eigene Untersuchungen

Auf ß-D-Galaktosidaseaktivität wurden vierundzwanzig Plazenten (Nr. 1, 3, 4, 6-20, 22, 25-29 der Tabelle I) untersucht. Zur histochemischen Darstellung des Enzyms nahmen COHEN, RUTENBURG u.a. (1952) als Substrat das 6-Brom-2-naphtyl-ß-D-Galaktopyranosid. 1958 verbesserte RUTENBURG diese Methode. Durch ein mit NaCl hypertonisches Inkubationsmedium wurde die Diffusion des löslichen Enzyms zurückgedrängt. Die Glykosidase, die auf das benutzte Substrat ebenfalls einwirken kann, wurde dadurch gleichzeitig gehemmt. Die eigenen Untersuchungen wurden mit dieser Methode an unfixierten Kryostatschnitten durchgeführt. Beim pH - Optimum des Enzyms wurde für 6 Stunden inkubiert. Anschließend folgte mit Echtblau B die Azofarbstoffkupplung.

Ergebnisse

Syncytiotrophoblast und Langhanszellen sind in der Intensität der Reaktion nicht zu unterscheiden. Schon die jüng-

sten Plazenten der 7. und 8. Woche weisen eine ausgeprägte Enzymaktivität auf. Die Trophoblastreaktion hat ihr Maximum am Ende des 1. Trimesters. Ein stärkerer Abfall der Aktivität findet sich erst gegen Ende der Schwangerschaft. Die Farbstoffgranula liegen diffus im Cytoplasma, während die Zellkerne immer deutlich heller hervortreten.

Im Stroma sind entweder keine oder nur in geringer Menge diffus verstreute Farbstoffgranula zu erkennen. Diese Bilder lassen eher an eine unspezifische oder durch Enzymdiffusion verursachte Reaktion denken.

Die Reaktion der Gefäße ist unregelmäßig. Mit fortschreitender Reifung der Plazenta sieht man immer mehr und zum Teil auch intensiver positive Gefäßwände. Die Kapillaren bleiben immer negativ.

In den Hofbauerzellen kann das Enzym nicht nachgewiesen werden.

(Siehe auch Abbildung 4, Seite 89).

Diskussion

Die β-D-Galaktosidase ist eindeutig im Cytoplasma der Trophoblastzellen lokalisiert. Aus diesem Befund ergeben sich Parallelen zu dem Vorkommen dieses Enzyms im Ovar, wo die β-D-Galaktosidase von KÖNIG (1965) ebenfalls nur in den hormonproduzierenden Zellen - als solche werden auch die Trophoblastzellen angesehen - nachgewiesen werden konnte. Die geringere Aktivität plazentarer Gefäße müßte man allerdings in einem anderen Zusammenhang gesehen werden. Die diffuse und unregelmäßige Reaktion im Zottenstroma könnte durch Enzymdiffusion entstanden sein. Für diese Deutung spricht, daß die Farbstoffgranula ohne Beziehungen zu irgendwelchen Gewebsstrukturen des Zottenstromas lokalisiert waren. Ferner ist daran zu denken, daß bei der langen Inkubationszeit von 6 Stunden eine Enzymdiffusion nicht auszuschließen ist. Trotzdem waren die Kerne im Gegensatz zum Cytoplasma des Trophoblasten nur gering pigmentiert oder negativ.

5) P e p t i d - H y d r o l a s e n

Leucinaminopeptidase

Die Leucinaminopeptidase (LAP) wurde von LINDERSTRØM - LANG (1929) zum erstenmal beschrieben. Dieses erste Enzympräparat aus Schweinedarmmucosa hydrolysierte l-Leucinamid und l-Leucylglycin, nicht aber solche Verbindungen, in welchen die freie Aminogruppe acyliert ist. Die LAP ist eine Aminoexopeptidase und bevorzugt N-terminal stehendes L-Leucin. Nach SMITH und HILL (1961) zeigt die LAP auch eine geringe Hydrolyse von n-Butyl-l-leucinat und hat damit auch die Wirkung einer Esterase. SMITH und SPACKMANN (1955) isolierten die LAP aus Schweinenieren. Dieses Präparat hatte in der Ultrazentrifuge eine Sedimentationskonstante von 12,6 SE, was einem Molekulargewicht von 300 000 entspricht. Das Enzym erwies sich als Metallproteid mit Mg^{++} als Cofaktor. In der Plazenta ist Mn^{++} Coferment der LAP (VESCIA 1955). Über den Mechanismus der Hydrolyse besteht folgende Vorstellung (SMITH und LUMRY 1950): Über das Metallion als Brücke wird das Substrat an das Enzymprotein gebunden. Die Hydrolyse erfolgt dann an diesem Enzym - Substrat - Komplex.

Während histochemisch nur die LAP nachgewiesen werden kann, lassen sich mit biochemischen Methoden verschiedene proteolytische Enzyme nachweisen. So isolierte ABE (1932) aus der Plazenta ein Kathepsin I, GOLDSTEIN und MILGRIM (1935) wiesen ein Kathepsin II nach. Nach STARK (1956) nimmt die Kathepsinaktivität mit fortschreitender Schwangerschaft ab. In normalen reifen Plazenten fanden STARK und SIEBERT (1959) 77% der Aktivität im Cytoplasma und in den Mikrosomen, 7% im Kern und 14% in den Mitochondrien. DUMAZARET (1956) unterschied auf Grund verschiedener pH - Optima vier proteolytische Enzyme in der Plazenta. Diese sind möglicherweise identisch mit den vier Komponenten der LAP, die VESCIA (1955) mit Hilfe der Elektrophorese trennen konnte.

Verschiedene biochemische Untersuchungen (VESCIA 1955, KLEINER und GRAFF 1963, KRESSER und WORASCHEK 1965) ergaben übereinstimmend einen hohen Gehalt der menschlichen Plazenta an LAP.

Auch histochemisch wurde die Plazenta wiederholt untersucht(FUHRMANN 1959, WIELENGA und WILLIGHAGEN 1962, KLEINER, WILKIN und SNOECK 1962, WACHSTEIN, MEAGHER, ORTIZ 1963, CURZEN 1964, JONEK und SKALBA 1965). Immer zeigte sich eine starke Aktivität im Stroma, namentlich in den Stromazellen. Dagegen wurde der Trophoblast zum Teil schwach oder nicht aktiv (WIELENGA und Mitarb., FUHRMANN, WACHSTEIN und Mitarb.), von den anderen Autoren dagegen als sehr aktiv beschrieben. JONEK und SKALBA fanden eine hohe Aktivität im Trophoblasten junger Plazenten. Diese verringerte sich mit zunehmendem Schwangerschaftsalter. Nach FUHRMANN sowie WACHSTEIN und Mitarb. schließlich ist das Enzym auch in den Gefäßwänden und Kapillarendothelien lokalisiert. Bei den histochemischen Untersuchungen von FUHRMANN (1959) an Uterus, Ovar, Tube und Plazenta war die LAP in Epithelien und Bindegewebe immer im Cytoplasma der Zellen lokalisiert, wahrend die Zellkerne negativ waren. Gleiches fanden BURSTONE und FOLK (1956) und NACHLAS (1956, 1959) bei der Untersuchung anderer tierischer und menschlicher Organe. Die Lokalisation im Cytoplasma und die Negativität der Kerne stimmt mit den biochemischen Ergebnissen von MAYER und GRECO (1951), und WEISS (1953) überein. GIANETTO und DUVE (1955) fanden in der Leber das verwandte Kathepsin an kleine Mitochondrien gebunden. Im Serum ist die Aktivität der LAP bei Schwangeren stark erhöht (KLEINER, GRAFF u.a. 1963). SIEGEL (1959) fand einen kontinuierlichen Anstieg von 200 auf 1000 Enzymeinheiten im Serum und einen gleichen Anstieg in der Plazenta. Der Ursprung der vermehrten Serum - LAP aus der Plazenta wurde zwar vermutet, ist aber noch nicht bewiesen.

Die Funktion der LAP erstreckt sich auf den Abbau, Umbau und Aufbau von Eiweiß. Das Gleichgewicht der Katalyse

liegt zwar auf Seiten der Spaltung, eine Synthese ist aber als einfache Umkehr der Hydrolyse möglich. Die LAP zeigt Aktivität gegen Leucinamide, α-Aminobuttersäureamide, gegen Amide der aromatischen Aminosäuren und gegen ß-Aminosäurepeptide. Sie kann am Abbau von Substanzen wie Glykogen, Wachstumshormon, ß-Laktoglobulin und von Oxytocin teilnehmen. Von der eigentlichen LAP kann elektrophoretisch eine Oxytocinase abgetrennt werden. (KLEINER, WILKIN, SNOECK 1962). Die LAP - Aktivität hat besondere Beziehungen zu Tumoren. Das begrenzende Stroma besitzt fast immer eine hohe Aktivität. BURSTONE (1956) und BRAUN-FALKO (1957) sahen in dieser Aktivität ein Zeichen für die Invasivität des Tumors. Dagegen zog MONIS (1959) aus seinen Versuchen den Schluß, daß die LAP - Aktivität eine biologische Eigenart proliferierender Gewebe ist und keine Beziehung zur Invasivität des Tumors hat. Er fand nämlich bei Wundheilungen eine hohe Aktivität in den proliferierenden Bindegewebszellen, die parallel mit der Proliferation des Granulationsgewebes anstieg und wieder abnahm. FUHRMANN (1959) zeigte, daß die sezernierenden Drüsenepithelien des Endometriums, die einen hohen Eiweißumsatz haben, eine hohe LAP - Aktivität besitzen.

Eigene Untersuchungen

Mit der Azofarbstoffkupplungsmethode nach NACHLAS, CRAWFORD und SELIGMAN (1957) wurden dreiundzwanzig Plazenten (Nr. 1, 6, 7-22, 25, 26, 28 und 29 der Tabelle I) untersucht. Wegen der Diffusion des in H_2O löslichen Enzyms und der Kristallisation des Farbstoffes hielt GOMORI (1954) die Methode bei unfixierten Gefrierschnitten für unbefriedigend. Dagegen wies FUHRMANN (1959) auf die großen Vorteile der Methode hin: Das Substrat (l-Leucyl-ß-naphtylamid) ist spezifisch und wird schnell gespalten. Die Simultankupplung verhindert die Diffusion des freigesetzten ß-Naphtylamid und der gebildete Azofarbstoff ist fast unlöslich. Die unerwünschte

Kristallisation wird verhindert, indem der Azofarbstoff mit 0,1 mol $CuSO_4$ in einen Kupferchelat-Komplex überführt wird (NACHLAS, CRAWFORD und SELIGMAN). Die hohe Aktivität in der Plazenta erforderte nur kurze Inkubationszeiten (1 Stunde). Damit bleibt die Enzymdiffusion sehr gering. Zum Vergleich wurden einige Schnitte vor der Inkubation 30 Minuten in Aceton fixiert. Dabei ergab sich kein Unterschied in der Schärfe der Lokalisation. So blieben die Trophoblastkerne auch bei unfixierten Schnitten negativ.

Ergebnisse

In der Aktivität von Syncytium und Langhansschicht sind keine Unterschiede festzustellen. Beide zeigen eine Aktivitätszunahme bis etwa zur 14. Woche. Auf einem wenig niedrigeren Niveau bleibt die Intensität der Pigmentierung dann konstant bis zum Termin. Die Reaktion ist immer diffus im Cytoplasma lokalisiert, während die Kerne deutlich als weniger aktiv zu differenzieren sind.

Die ausgeprägte Aktivität im Stroma ist ein Charakteristikum der LAP. Gering ausgeprägt bei jungen Plazenten, erreicht die Aktivität im Stroma ein Maximum zwischen der 14. und der 20. Woche. Auch in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft bleibt die Aktivität im Stroma hoch. Die Reaktion ist zum Teil diffus, zum Teil an die Zellen gebunden.

Bei den größeren Gefäßen reagieren alle Schichten der Gefäßwand positiv. Ab dem 4. Monat weisen auch die Kapillarendothelien eine deutliche Enzymlokalisation auf. Hofbauerzellen werden in wechselnder Zahl und nicht in allen Plazenten aktiv gefunden.

Diskussion

Die eigenen Untersuchungen stützen die Ergebnisse der Autoren, die die LAP im Stroma und im Trophoblasten lokalisierten. JONEK und SKALBA (1965) stellten das Aktivitätsmaximum im Trophoblasten etwas früher fest und be-

schrieben dann eine kontinuierliche Abnahme bis zum Termin, während in den eigenen Untersuchungen das Maximum zwischen der 14. und 20. Woche und eine mittlere gleichbleibende Aktivität bis zum Termin gefunden wurde. Eine besondere Aktivität der Basalmembranen (JONEK und SKALBA) konnte nicht festgestellt werden. Die syncytiale Oberfläche zeigt gelegentlich eine stärkere Reaktion. Entsprechend den Untersuchungen von FUHRMANN an Uterus und Ovar wurde auch an der Plazenta die Aktivität im Cytoplasma lokalisiert, während die Kerne negativ blieben.

6) Säureanhydridbindungen spaltende Hydrolase

Adenosintriphosphatase

Die Adenosintriphosphatasen sind spezifisch auf die Abspaltung endständiger Phosphatgruppen aus Substraten wie Adenosintriphosphat (ATP) und Inosintriphosphat (ITP) eingestellt. Die Diphosphate von Adenosin und Inosin werden nicht angegriffen. Die Hydrolyse von ATP ist eine stark exergonische Reaktion. Die Synthese dieser Substrate kann daher nicht als einfache Umkehr der Hydrolyse verlaufen (DU BOIS und POTTER 1943). Andererseits kommt es oft zur spontanen Hydrolyse der Substrate. ATP-asen kommen in den Muskelfibrillen (Myosin-ATP-ase) und in den Mitochondrien aller Zellen sowie in Erythrocyten vor. NOVIKOFF (1950) fand in der Rattenleber 75% der Enzymaktivität in den Mitochondrien und 10-20% in den Kernen. Die Mitochondrien-ATP-ase ist normalerweise nur latent in der Zelle vorhanden. Erst nach einer Schädigung der Zelle wird eine Aktivität nachweisbar. In den Mitochondrien ist auch die Atmungskette lokalisiert. Diese wird durch Stoffe wie Cyanid und Malonat gehemmt, während die Aktivität der ATP-ase dadurch nicht beeinträchtigt wird (MYERS und SLATER 1957). Trotzdem bestehen gewisse Beziehungen zwischen der Atmungskette und der ATP-ase. Durch 2,4-Dinitro-

phenol wird die oxydative Phosphorylierung entkoppelt, gleichzeitig wird die Aktivität der ATP-ase gesteigert. Die Synthese von ATP erfolgt an drei verschiedenen Stellen in der Atmungskette. HÜLSMAN und SLATER (1957) halten es für möglich, daß auch drei verschiedene Enzyme oder Coenzyme an der Hydrolyse von ATP beteiligt sind. Die ATP-ase aus Lebermitochondrien hat vier verschiedene pH - Optima. Von diesen vier Enzymen werden drei durch 2,4-Dinitrophenol aktiviert. Diese drei Enzyme könnten Beziehungen zu den drei Stellen der oxydativen Phosphorylierung in der Atmungskette haben (MYERS und SLATER 1957).

Die ATP-ase katalysiert die Spaltung energiereicher Verbindungen. Ihre Funktion wird daher in einem System zu suchen sein, das energieverbrauchende Zellvorgänge steuert. NOVIKOFF (1959) nimmt eine Beteiligung im Transport von Substanzen durch die Membranen sekretorischer Zellen an. Er hält auch eine Teilnahme des Enzyms an der Reaktion, die zur Bewegung der Mikrovilli der Zellen führt, für möglich. Diese Auffassung unterstützt die Experimente von NELSON (1958), dem der cytochemische Nachweis von ATP-aseaktivität in den Geißeln von Rattenspermien gelang. An Zellgrenzflächen wie den Erythrocytenmembranen und den Membranen der Mikrosomen kommt eine ATP-ase vor, welche durch Na^+ und K^+ aktiviert wird. SKOU (1957) charakterisierte diese als separates Enzym. Sie soll verantwortlich sein für den aktiven Transport von Na-Ionen und K-Ionen an Grenzmembranen. GRAF und STOCKINGER (1956) diskutierten ebenfalls die Funktion der Aufrechterhaltung von Ionenpotentialen durch die ATP-ase.

Histochemisch konnten PADYKULA und HERMANN (1955) auf Grund des verschiedenen Verhaltens gegen SH-Gruppen drei verschiedene ATP-asen abgrenzen:

1) Die echte ATP-ase benötigt SH-Gruppen und wird daher durch Salyrgansaure u.a. genemmt. Sie kommt in den Skelett- und Herzmuskelfasern sowie in den Mitochondrien der

Epithelzellen vor.
2) Bei Enzymen, die durch SH-Verbindungen gehemmt werden, wird die Mitwirkung einer alkalischen Phosphatase angenommen. Die höchste Aktivität weisen der Bürstensaum der Tubulusepithelien der Niere und die Cuticularschicht des Darmes auf.
3) Eine dritte Gruppe von Enzymen ist unabhängig von SH-Gruppen und kommt vorwiegend im Endothel und in der glatten Muskulatur von Gefäßen vor.

In der menschlichen Plazenta wiesen DEMPSEY und WISLOCKI schon 1947 eine ATP-aseaktivität in den Gefäßen nach. Diese Gefäßaktivität scheint vielen Organen gemeinsam zu sein (ARVY 1959, NAIDOO und PRATT 1956). LOBEL, DEANE und ROMNEY (1962) konnten außerdem im syncytialen Bürstensaum eine geringe Aktivität feststellen. WIELENGA und WILLIGHAGEN (1962) fanden keine Aktivität in den Kernen des Syncytiums. Die Reaktion war überwiegend im Bürstensaum und zum Teil auch basal lokalisiert. WACHSTEIN und Mitarb. (1963) erhielten sowohl im Syncytium wie in den Langhanszellen eine starke Reaktion, dagegen eine geringere Aktivität in den Gefäßendothelien.

Eigene Untersuchungen

Die histochemische Darstellung der ATP-ase bringt verschiedene Probleme mit sich. Das für die ATP-ase spezifische Substrat, das Adenosintriphosphat, kann auch von der unspezifischen alkalischen Phosphatase angegriffen werden. Freies Phosphat könnte nach BARKA und ANDERSON (1963) auch entstehen, wenn zuerst Pyrophosphat abgespalten wird, welches dann durch eine Pyrophosphatase in zwei Moleküle Orthophosphat zerlegt wird. Enzyme, die diese Reaktion katalysieren, würden in gleicher Weise durch histochemische Methoden erfaßt werden. FREIMAN und KAPLAN (1960) wiesen nach, daß ATP auch durch eine weniger spezifiscne Polyphosphatase bei alkalischem pH gespalten werden kann.

Da die ATP-ase empfindlich gegen Fixationsmittel und außerdem unlöslich ist, bieten unfixierte Kryostatschnitte gute Voraussetzungen zur Untersuchung. Durch Spontanhydrolyse des energiereichen Substrates ATP kann eine Enzymaktivität vorgetäuscht werden. Dieser Möglichkeit einer falsch positiven Enzymlokalisation muß durch kurze Inkubationszeit Rechnung getragen werden. Trotzdem auftretende Spontanhydrolyse kann dadurch erfaßt werden, daß inaktivierte Kontrollschnitte mitinkubiert werden. Bei der Beurteilung histochemisch dargestellter Enzymaktivitäten ist daran zu denken, daß die in vivo latente Mitochondrien-ATP-ase erst durch die Manipulationen des histochemischen Arbeitsganges aktiviert wird. Histochemisch nachgewiesene Aktivität ist daher nicht gleichzusetzen mit Aktivität in vivo. Unter diesen Voraussetzungen wurden nach der Methode von PADYKULA und HERMANN (1955) dreiundzwanzig Plazenten (Nr. 1, 3, 6-24, 27 und 29 der Tabelle I) untersucht. Mit ATP als Substrat wurde bei einem pH zwischen 9,2 und 9,4 für 2 Stunden inkubiert. Als Endprodukt der mehrstufigen Reaktion erschien unlösliches Cobaltsulfid.

Ergebnisse

Der Syncytiotrophoblast ist bei allen untersuchten Plazenten gut angefärbt. Die Reaktion ist bei jungen Plazenten am intensivsten und wird mit fortschreitender Reifung geringer. Die Aktivität ist aber auch am Termin noch deutlich ausgeprägt. Der Ort der größten Enzymaktivität ist die syncytiale Oberfläche. Etwas schwächer färbt sich darunter das Cytoplasma des Syncytiums an, in dem sich die Kerne in gleicher Intensität anfärben.

Der Cytotrophoblast zeigt eine noch geringere aber noch deutlich positive Reaktion. In ihm fallen die oft stärker pigmentierten Kerne auf.

Die Fibrocyten im Stroma reagieren in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft meist mit mäßiger Intensität. Wäh-

rend im Syncytium die Reaktion mit fortschreitender Schwangerschaft abnimmt, ist der Aktivitätsverlauf in den Gefäßen gerade umgekehrt. Bei jungen Plazenten war nur das Endothel großer Gefäße positiv. Mit fortschreitender Reifung werden immer kleinere Gefäße und schließlich auch die Kapillarendothelien angefärbt. Dabei nimmt die Intensität der Reaktion bis zum Termin zu. Am stärksten reagiert das Endothel. Die anderen Schichten zeigen weniger Aktivität. Auch die Erythrocyten im Gefäßlumen sind oft leicht pigmentiert.

Die Hofbauerzellen bleiben ohne Reaktion.

(Siehe auch Abbildung 5, Seite 89).

Diskussion

Die Lokalisation der ATP-ase im Syncytium und in der Langhansschicht sowie in den Gefäßen stimmt mit den Befunden von WACHSTEIN und Mitarb. (1963) überein, im Gegensatz zu anderen Autoren, die keine Aktivität des Cytotrophoblasten feststellen konnten. Eine Aktivität der Stromazellen wurde bisher nicht beschrieben. Auffallend hoch ist die Aktivität der kleineren Gefäße und Kapillaren.Die Lokalisation der ATP-ase geht weitgehend parallel mit derjenigen der 5-Nukleotidase. Mit den unspezifischen Phosphatasen haben beide nur die Lokalisation im Syncytium gemeinsam, dessen an das mütterliche Blut grenzende Oberfläche von allen drei Fermenten bevorzugt wird. Möglicherweise liegen hier gegenseitige Überschneidungen in der histochemisch erfaßten Aktivität vor.

In Parallelversuchen wurde die Bleinitratmethode von WACHSTEIN und MEISEL (1960) angewandt. Mit beiden Methoden wurden in Lokalisation und Aktivität die gleichen Resultate erzielt.

Eine Spontanhydrolyse des Substrats konnte nicht ausgeschlossen werden. Nach Inaktivierung des Fermentes durch Trichloracetat war die Reaktion zwar stark abgeschwächt, aber doch nicht negativ, während bei Inkubation ohne Sub-

strat keine Anfärbung auftrat. Die möglicherweise interferierende Spontanhydrolyse hätte also keinen wesentlichen Einfluß auf die Reaktion ausgeübt.

7) C - O - L y a s e n

Karbonsäureanhydrase

Die Hydratation des Kohlendioxyds und die Dehydration der Kohlensäure können spontan ablaufen:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3$$

In vivo wird diese Reaktion durch die Kohlensäureanhydratase (CAH) gesteuert und nach Bedarf stark beschleunigt. Die Existenz dieses Enzyms wurde zuerst von MELDRUM und ROUGHTON (1934) in Erythrozyten nachgewiesen. Von KEILIN und MANN (1939) wurde es gereinigt dargestellt. Das Ferment hat ein niedriges Molekulargewicht um 30 000 und als Charakteristikum einen Zinkgehalt von 0,2 - 0,3%. Zink als essentielle Gruppe des Enzyms ist für die Funktion unentbehrlich. Sulfonamide sind starke Hemmstoffe. Besonders wirksam ist das Diamox. Die Verteilung des Enzyms in den Organen des Menschen und bei höheren Tieren läßt sich von der Funktion her verstehen. So sind das Pankreas, die Magenschleimhaut, die Nierenrinde und Drüsen wie die Parotis besonders reich an CAH. Das Ferment dient der Aufrechterhaltung eines Puffersystems (BERLIN und ORLOFF 1956), aus dem in verschiedenen Organen saure oder basische Valenzen in Sekrete abgegeben werden. In den Belegzellen des Magens wirkt es bei der Bereitstellung von H-Ionen mit, im Pankreas steuert es den Bikarbonatgehalt des Sekrets. Der Säure - base - Haushalt wird entscheidend von diesem Ferment beeinflußt. In den Tubulusepithelien der Niere stellt die CAH je nach Stoffwechsellage mehr oder weniger H-Ionen zum Austausch gegen Na-Ionen bereit. Die Erythrocyten - CAH ermöglicht die rasche Aufnahme von CO_2 aus den Geweben und dessen Abatmung in der Lunge.

Da die Plazenta hinsichtlich Gasaustausch und pH - Regulierung die Funktion der fetalen Lungen und Nieren übernehmen muß, ist ein solches Ferment in der Plazenta zu vermuten. LUTWAK-MANN hat 1954 auf biochemischem Weg die Aktivität einer CAH in der Plazenta von Kaninchen, Ratten und Meerschweinchen nachweisen können. Dabei zeigte der mütterliche Teil der Plazenta eine höhere Aktivität als der fetale Anteil. LUTWAK-MANN (1954) zeigte, daß nach Zufuhr von Gonadotropinen, Progesteron, Methyltesteron, Ethisteron u.a., aber auch nach Cu^{++}- Salzen, z.B. Kupferacetat, die Aktivität des Enzyms signifikant erhöht war. Auf dieser Tatsache basiert der CAH - Test nach LUTWAK-MANN (1957), der die luteoide Wirkung von Hormonen an der Aktivitätszunahme der CAH mißt.

KURATA (1953) untersuchte die CAH erstmals mit einer histochemischen Methode. Unter den Organen der Ratte konnte er das Ferment in den Belegzellen der Magenschleimhaut, in Erythrocyten, in den Nierentubuli sowie im Epithel des Nebenhodens nachweisen. Auch der Syncytiotrophoblast der Rattenplazenta reagierte intensiv positiv.

Zu den Vorstellungen über die Funktion der CAH passen auch die histochemischen Befunde von BRAUN-FALCO und RATHJENS (1955), die eine CAH - Aktivität der ekkrinen Schweißdrüsen der Haut nachweisen konnten. Das Ferment könnte in diesen Organellen bei der Regulation der Aziditat und der Zusammensetzung der Schweißelektrolyte mitwirken. Neuere histochemische Untersuchungen von BLEYL und MASCH (1964) sowie von LEDER und GROH (1965) bestätigten die Aktivität einer CAH in der Plazenta. BLEYL und MASCH lokalisierten die CAH in reifen menschlichen Plazenten im Syncytium in unmittelbarer Beziehung zur Basalmembran. Sie konnten keine Unterschiede in der Aktivität der syncytiosinusoidalen Membranen, der syncytialen Zellknospen und der syncytialen Brücken feststellen. In der Rattenplazenta wies das plazentare Schwammwerk die intensivste Reaktion auf (LEDER und GROH 1965).

LUTWAK-MANN (1955) prüfte die Wirkung des Inhibitors Diamox in vivo an Ratten. Nach parenteraler Gabe von Diamox war die Fermentreaktion in der Plazenta normal, vermindert oder aufgehoben, je nach dem Zeitpunkt der Untersuchung. Eine Schädigung des Embryos konnte nach Diamoxbelastung jedoch nicht beobachtet werden, was nach LUTWAK-MANN mit der nur kurzzeitigen Hemmwirkung zu erklären ist.

Eigene Untersuchungen

Mit der Methode von KURATA (1953) wurden zehn Plazenten (Nr. 2, 5, 7, 9, 12, 14, 22, 23, 24 und 27 der Tabelle I) untersucht. Dabei handelt es sich um drei Spontangeburten am Termin, vier Interruptiones (11., 13., 14., 15. Woche), zwei Fälle von Tuberabort (8. Woche) und einen Fall von Eklampsie in der 40. Woche.

Der histochemische Nachweis der CAH nach KURATA (1953) beruht darauf, daß die durch die Fermentwirkung freigesetzte Kohlensäure mit Co - Ionen gefällt wird. Das Praezipitat wird mit Ammoniumsulfid zu sichtbarem Cobaltsulfid umgewandelt. Die Inkubation erfolgte in KURATAS Inkubationsmedium bei Zimmertemperatur für 1 Stunde. Zuvor wurden die auf Objektträger aufgezogenen Kryostatschnitte bei 4°C in Aceton 1 Stunde lang fixiert. Kontrollreaktionen durch Hemmung der CAH - Aktivität mit Diamox ($4x10^{-3}$mol) wurden zur Ermittlung der Spezifität der Reaktion durchgeführt.

KURATAS Methode ist jedoch umstritten. FAND und Mitarb. (1959) glaubten, daß mit dieser Methode nicht das Ferment CAH, sondern divalente Kationen wie Zink nachgewiesen werden. Auch KORHONEN (1966) hielt die Methode für unspezifisch. KURATAS Methode wurde von HÄUSLER (1959) modifiziert und verbessert. Die neueren Methoden verlangen eine besondere Technik der Vorbehandlung der Gewebe. An Kryostatschnitten läßt sich nur die Methode von KURATA durchführen, die daher in den eigenen Untersuchungen zur

Anwendung kam. Die ermittelten Ergebnisse müssen mit der genannten Kritik gewertet werden.

Ergebnisse

Nur der Trophoblast weist einen schwarzen Niederschlag von Cobaltsulfid auf, während Stroma, Gefäße und Hofbauerzellen nicht reagieren. Das Präzipitat ist zum Teil gleichmäßig im Trophoblasten verteilt, zum Teil auch isoliert in der Basalmembran des Trophoblasten lokalisiert. Soweit bei zehn Plazenten eine Beurteilung des Aktivitätsverlaufes während der Plazentareifung möglich ist, nimmt die Reaktion mit fortschreitender Reifung ab.
Nach Zusatz von Diamox sind, im Sinne der Hemmung der CAH-Aktivität, nur diffuse unspezifische Niederschläge zu erkennen.

(Siehe auch Abbildung 6, Seite 89).

Diskussion

Die bisher einzige Untersuchung der CAH in der menschlichen Plazenta stammt von BLEYL und MASCH. Im Gegensatz zu diesen Autoren zeigten die eigenen Präparate nicht nur eine Aktivität des Syncytiums, sondern auch der Langhanszellen. Eine positive Reaktion konnte nicht in allen Fällen erzielt werden. Auffallend war die oft nur fleckförmige Verteilung des Präzipitats neben größeren negativen Gewebsarealen. Im positiven Falle war der Trophoblast gleichmäßig dicht pigmentiert, ohne Beziehungen der Aktivität zu besonderen Zellstrukturen erkennen zu lassen. Die Hemmung der Reaktion durch Diamox spricht für die Spezifität des Enzymnachweises. Wegen der nur unsicher reproduzierbaren Ergebnisse ist die Methode aber nicht zu empfehlen.

IV Histochemische Befunde bei Praeeklampsie und Eklampsie

Die Toxikoseplazenta zeichnet sich histologisch durch verschiedene Merkmale aus. Die starke hämorrhagische Infarzierung entspricht der Schwere der Krankheit (STARK und WEISE 1962, POSPISIL und BALAK 1962). Bei schweren Toxikosen sind bis zu 30% des Plazentagewebes gegenüber nur 0,08% bei normalem Schwangerschaftsverlauf infarziert (KUBLI und BOLLIGER 1963). Weitere Veränderungen wie Fibrinablagerung, Zottenfibrose und Verklebung der Zotten führen zur zusätzlichen Erschwerung des Stoffaustausches (SIEGEL 1963). BURSTEIN, SOULE und BLUMENTHAL (1957) bringen die starke Hyperplasie des Syncytiums in Zusammenhang mit dem veränderten Steroidhormonstoffwechsel. Eine Beeinträchtigung des Stoffwechsels der Plazenta unter der Erkrankung ergibt sich aus den Untersuchungen von STARK und KLINHART (1956), die bei Eklampsie und Übertragung eine Verringerung der Ribonukleinsäuren und des Protein-N auf 1/2 bis 1/5 der Norm fanden, was für eine starke Herabsetzung des Eiweißstoffwechsels spricht. Es ist daher naheliegend, auch nach Veränderungen im Enzymgehalt zu suchen. Bei histochemischen Untersuchungen ist aber zu berücksichtigen, daß gegenüber der Norm veränderte Reaktionen nicht nur durch tatsächliche Veränderung der Enzymaktivität verursacht werden können. Primär durch die Erkrankung oder sekundär durch therapeutische Maßnahmen könnte z.B. die Permeabilität der Zellmembranen oder intrazellulärer Strukturen verändert werden, wodurch sich die Diffusion des Substrates verändert. Stoffwechselfunktionen, die am Transport des Substrates bzw. der Spaltprodukte beteiligt sind, könnten durch pH-Veränderungen, Störungen im Ionenmilieu u.a. blockiert sein.

Das Untersuchungsmaterial der vorliegenden Arbeit enthält einen Fall von Praeeklampsie und Eklampsie (Nr. 13

und 22). Bei der Präeklampsie wurde die Geburt nach stationärer Behandlung einer Nephropathie mit Hypertonie, hochgradigen Oedemen und Albuminurie in der 36. Woche eingeleitet. Die Patientin mit Eklampsie verstarb nach mehreren Anfällen unter der Geburt an einer Hirnblutung. Trotz des Vorliegens von Einzelfällen werden die Ergebnisse im Vergleich mit anderen Veröffentlichungen mitgeteilt.

Über das Verhalten der unspezifischen Esterasen und Lipasen bei Präeklampsie und Eklampsie liegen keine Literaturangaben vor. Bei den eigenen Präparaten ist die Lokalisation mit intensiver Reaktion im Trophoblasten und geringerer Aktivität der Gefäße und Hofbauerzellen gegenüber Plazenten aus normalen Schwangerschaften unverändert. Die Intensität der Reaktion ist aber in beiden Fällen gleichmäßig verringert. Grundsätzlich gilt für alle untersuchten Fermente, daß bei Präeklampsie und Eklampsie nur Veränderungen der Reaktionsstärke, nicht aber der Lokalisation zu beobachten sind. Die Enzymlokalisation entspricht daher den beschriebenen Befunden.

Für die Cholinesterasen wurde bei Toxikose wiederholt eine Steigerung der Aktivität beschrieben (HOFBAUER 1941, WOODBURY, ABREU, TORPIN, FRIED 1945, BARNES und EPPERSON 1952), wobei offen blieb, ob dieser Faktor als Schutzmechanismus oder als die Erkrankung fördernd angesehen werden muß. KYANK (1955) konnte dagegen keine Veränderungen der Enzymaktivität bei Toxikose feststellen. Im Serum soll sie bei Toxikose wie auch bei anderen schweren Erkrankungen proportional der Schwere der Symptome ansteigen. Bei den eigenen Untersuchungen ist neben der guten Gefäßzeichnung eine stärkere [illegible] gegenüber normalen reifen Plazenten auffallend.

Über das Verhalten der alkalischen Phosphatase bei Toxikose liegen biochemische und histochemische Untersuchungen vor. JEACOCK, MORRIS und PLESTER (1961) fanden biochemisch bei Toxikose eine Steigerung der Aktivität in

der 33. - 36. Woche, während am Termin kein Unterschied bestand. Ihnen widersprach HUMKE (1963), der am Termin eine um 15% erniedrigte Aktivität bestimmte. Einheitliche Ergebnisse brachten die histochemischen Untersuchungen, bei denen übereinstimmend ein Aktivitätsanstieg bei gleicher Lokalisation ermittelt wurde (WISLOCKI und DEMPSEY 1946, THOMSEN 1956, PAZOUREK 1962, CURZEN 1964). Dieses Verhalten wurde entsprechend den histologischen Befunden bei Toxikose als vorzeitige Reifung bzw. Alterung der Zotten aufgefaßt. STARK und JUNG (1958) ermittelten eine besondere Zunahme der Aktivität in Kern und Mitochondrien mit relativer Abnahme der Plasmaaktivität, was sie auf eine Permeabilitätssteigerung für das Substrat durch einen Gewebsschaden infolge Minderdurchblutung zurückführten.

In den zwei untersuchten Plazenten findet sich nach Präeklampsie in der 36. Woche eine gleich starke Reaktion wie in reifen Plazenten, während bei Eklampsie in der 40. Woche die Plazenta eine stark abgeschwächte Reaktion aufweist. Der Aktivitätsverlauf entspricht dem einer vorzeitigen Reifung mit starkem Aktivitätsabfall am Termin entsprechend einer Übertragung (THOMSEN 1956). Die Lokalisation im Syncytium ist unverändert.

Die saure Phosphatase verhält sich in normalen Plazenten umgekehrt wie die alkalische Phosphatase (THOMSEN 1955 und CURZEN 1964). Bei Toxikose fällt die Aktivität der sauren Phosphatase ab. Biochemische Untersuchungen von JEACOCK, MORRIS und PLESTER 1963) konnten dagegen keine Aktivitätsveränderung feststellen. Dagegen ist die Aktivität bei den eigenen Fällen erhöht, stärker bei der Eklampsieplazenta als bei der Präeklampsie.

In Übereinstimmung mit THOMSEN und PANKA (1956) ist die 5-Nukleotidase bei normaler Lokalisation im Trophoblasten, in den Fibrocyten im Stroma, in den Gefäßen und Hofbauerzellen bei Toxikose vermehrt aktiv.

Die Glucose-6-phosphatase wurde 1964 von CURZEN untersucht, der bei Toxikose einen früheren Aktivitätsanstieg feststellen konnte. Dieses Resultat konnte bestätigt werden, da die Präeklampsie aus der 36. Woche die gleiche Aktivität wie normale reife Plazenten zeigt, während die Eklampsie aus der 40. Woche nur noch schwach reagiert. Auffallend ist die Parallelität zur alkalischen Phosphatase, deren Aktivität ebenfalls rascher ansteigt und frühzeitiger wieder abfällt. Beide sind im Syncytium lokalisiert, die Glucose-6-phosphatase bei reiferen Plazenten auch in Gefäßen.

Die Phosphoamidase wurde bisher in der Plazenta nicht untersucht. Ihre Lokalisation und Aktivität im Trophoblasten ist bei Toxikose unverändert.

BIANCHI (1955) fand für die Arylsulfatasen bei Toxikoseplazenten erniedrigte Werte. Er sah diese Aktivitätsveränderung als Ursache von Veränderungen im Stoffwechsel blutdrucksteigernder Amine an. PULKKINEN (1958) konnte in zwei Fällen von Präeklampsie keine Unterschiede zur Norm feststellen. Bei den eigenen Untersuchungen ist die Aktivität im Falle der Präeklampsie stark erhöht mit besonderer Betonung des Stromas und der Gefäße, nicht so sehr des Trophoblasten. Umgekehrt fällt die Reaktion bei der Eklampsie stark abgeschwächt aus.

Über die ß-D-Galaktosidase liegen keine Literaturangaben vor. Bei der Präeklampsie ist die Reaktion im Trophoblasten und stärker noch in den Gefäßen intensiviert. Das Präparat der eklamptischen Plazenta zeigt dagegen keine Unterschiede zu normalen reifen Plazenten.

Die LAP - Aktivität im Serum ist während der Schwangerschaft erhöht. Der Ursprung der erhöhten Aktivität aus der Plazenta wird zwar von verschiedenen Autoren angenommen, ist aber bisher nicht bewiesen. KLEINER und GRAFF (1963) konnten bei Präeklampsie in 50% der Fälle im Serum erniedrigte Werte messen. Die LAP soll bei der

Inaktivierung des Oxytocins mitwirken. Niedrige LAP - Werte würden daher mit einer verminderten Oxytocinasewirkung einhergehen. STARK und SIEBERT (1959) untersuchten die verwandten Kathepsine in der Plazenta. Bei Toxikose nahm deren Aktivität in Kern und Mitochondrien um 50% ab, im Cytoplasma um 10% zu. Die Autoren nahmen eine Funktionsstörung der Plazentazellen bei dieser Erkrankung an. Über Veränderungen der LAP in der Plazenta bei Toxikose wurde bisher nichts bekannt. Bei unveränderter Lokalisation im Trophoblasten, im Stroma, in den Gefäßen und in den Hofbauerzellen ist die Aktivität bei Toxikose gegenüber der Norm stark abgeschwächt. Bei der Eklampsieplazenta fällt eine vermehrte Aktivität der Kapillarendothelien auf.

Über das Verhalten der ATP-ase und der Karboanhydrase bei Eklampsie liegen keine Literaturangaben vor. Bei der ATP-ase ergeben die eigenen Untersuchungen für die Präeklampsie eine nur geringe Reaktion, während die Eklampsie am Termin in der Lokalisation und Aktivität keine Unterschiede zu normalen Plazenten erkennen läßt: Hohe Aktivität im Trophoblasten und in den Gefäßen und niedrige Aktivität im Stroma.

Die CAH ist in Lokalisation und Aktivität im Trophoblasten bei Toxikose unverändert.

V Funktion der Hydrolasen in der Plazenta

1. Einleitung

Eine Übersicht über alle Fermente, die in der Plazenta nachgewiesen sind (KYANK 1958, HAGERMANN 1962), erlaubt Rückschlüsse auf die Stoffwechselprozesse und Funktionen. Die Plazenta besitzt viele Enzyme des intermediären Stoffwechsels. Entsprechend der endokrinen Aktivität der Plazenta findet man auch eine große Zahl steroidmetabolisierender Fermente. Bemerkenswert ist das Fehlen der Enzyme des Harnsäurezyklus. Die in dieser Arbeit untersuch-

ten Hydrolasen bilden unter den zahlreichen bekannten Enzymen nur eine kleine Gruppe. Im Folgenden werden die verschiedenen Funktionen der Plazenta erörtert und die mögliche Beteiligung der untersuchten Hydrolasen an den Aufgaben der Plazenta diskutiert.

2. Aktive Transportvorgänge an der Plazentaschranke

Zwischen mütterlichem und fetalem Kreislauf ist die Plazenta eingeschaltet. Alle Stoffe, die die Frucht zu ihrer Entwicklung benötigt, müssen deren Zellmembranen passieren. Die Stoffwechselschlacken des Feten gehen den umgekehrten Weg. Diese Austauschvorgänge beruhen nicht nur auf einer einfachen Diffusion auf Grund von Konzentrationsunterschieden. Die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen beweisen aktive Transportvorgänge oder wenigstens eine "facilitated diffusion" (HAGERMANN und VILLEE 1960). Nach VILLEE (1953) werden u.a. Aminosäuren, Monosaccharide und Glycerol aktiv durch diese Schranke transportiert. Die Konzentration von Vitaminen, anorganischem Phosphat und Aminosäuren ist im fetalen Blut höher als im mütterlichen. Ein morphologisches Substrat für aktive Stoffabgabe in den intervillösen Raum glaubt GELLER (1962) gefunden zu haben. Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen entdeckte er an der Oberfläche des Syncytiums Vakuolen mit benachbartem Golgiapparat. Er deutete diese als Sekretvakuolen.

Aktive Transportvorgänge verbrauchen Energie. Als energieliefernde Systeme konnten in der Plazenta der Pentosephosphatzyklus, der Tricarbonsäurezyklus und ein vollständiges Elektronentransportsystem nachgewiesen werden (VILLEE 1953). Glykolyse ist sowohl aerob wie anaerob möglich. In diesem Zusammenhang interessiert die ATP-ase, die die stark exergonische ATP - Spaltung katalysiert. Nach MYERS und SLATER (1957) ist die Mitochondrien - ATP-ase eng mit der ATP - Bildung in der Atmungskette verknüpft. In sekretorischen Zellen wurde eine Beteiligung

dieses Enzyms am Transport von Substanzen durch die Zellmembran angenommen. Auch könnte das Enzym in den Mechanismen mitwirken, die zur Bewegung der Mikrovilli führen (NOVIKOFF 1959). GRAF und STOCKINGER (1966) gelang der Nachweis von ATP - Aktivität im endoplasmatischen Retikulum von Flimmerepithelien. In den eigenen Untersuchungen wurde die ATP-ase im Trophoblasten und in den Gefäßen lokalisiert. Als Ort aktiver Transportmechanismen kommt vor allem der Trophoblast als eigentliche Plazentaschranke in Betracht. Die Trophoblastreaktion war im 2. und 3. Trimester etwas geringer als im 1. Trimester. Am intensivsten reagierte die apikale Grenzmembran des Syncytiums, die direkt mit dem mütterlichen Blut in Berührung steht. An dieser Grenze wird entschieden, welche Substanzen resorbiert werden. Aber auch andere Vorgänge wie die Bewegung der elektronenmikroskopisch nachgewiesenen Mikrovilli an der Oberfläche des Syncytiums oder die Sekretion von Substanzen in den intervillösen Raum, verlangen die Anwesenheit energieliefernder Mechanismen.

Die ATP-ase - Aktivität in den Gefäßen nahm mit fortschreitender Plazentareifung zu. Die hohe Aktivität der Endothelzellen größerer Gefäße und der Kapillaren könnte einer zweiten Gewebsschranke mit aktiven Transportmechanismen entsprechen. Das Myosin der Muskulatur wird mit dem Enzym ATP-ase identifiziert. Die positive Reaktion der muskulären Anteile der plazentaren Gefäße überrascht daher nicht. Ein spezifischer Transportvorgang ist die beim Kohlehydratstoffwechsel beschriebene Resorption der Glucose aus dem mütterlichen Blut. An diesem Mechanismus könnten sowohl die alkalische Phosphatase wie die Glucose-6-phosphatase beteiligt sein. Die wenig spezifische alkalische Phosphatase wirkt aber wahrscheinlich auch bei der Phosphorylierung anderer Substanzen zwecks Resorption mit.

Der Gasaustausch in der Plazenta erfolgt nach der Ansicht von VILLEE (1953) und HAGERMANN (1962) allein

durch physiologische Diffusion. Dies dürfte insofern nicht richtig sein, als mit der Carboanhydrase im Syncytiotrophoblasten ein Enzym eingeschaltet ist, das im Sinne der "facilitated diffusion" wirksam ist. Die Beschleunigung der CO_2 - Bildung aus Kohlensäure schafft ein größeres Konzentrationsgefälle und damit eine höhere Diffusionsrate als ohne dieses Ferment möglich wäre. Die höhere CO_2 - Abgabe hat wiederum eine vermehrte O_2 - Aufnahme zur Folge. Die CAH ist im Trophoblasten lokalisiert, teilweise auch nur in der Basalmembran des Trophoblasten. Dagegen kann man an der Grenze zum fetalen Blut keine Enzymaktivität feststellen.

Eng mit dem Gasaustausch ist der Säure-Base - Haushalt gekoppelt, denn das Kohlensäure-Bikarbonat - System hat als Puffer eine wichtige Funktion. Störungen im Säure-Base - Haushalt können nach der Geburt über Lunge und Niere rasch ausgeglichen werden. Für den Feten ist dies nicht möglich. Andererseits ist es unwahrscheinlich, daß die sich entwickelnde Frucht keinerlei Eigenregulation besitzt. Es ist daher naheliegend, in der Plazenta solche Mechanismen zu vermuten. In anderen Organen wurden für die CAH entsprechende Funktionen nachgewiesen. In den Belegzellen des Magens liefert sie H-Ionen zur Säureproduktion. In der Niere wirkt sie bei der H-Ionensekretion im Austausch gegen Basen mit. BRAUN-FALCO und RATHJENS (1955) lokalisierten die CAH histochemisch in den ekkrinen Schweißdrüsen des Menschen und vermuteten hier eine Beteiligung des Enzyms an der Regulation der Schweißelektrolyte und der Azidität des Schweißes. Der Nachweis des Enzyms in der Plazenta berechtigt zu ähnlichen Vermutungen.

Ein zweites Enzym, das regulierend in den Säure-Base-Haushalt eingreifen könnte, ist die Cholinesterase. Sie wurde im Syncytium und in den Gefäßen lokalisiert. Die Funktion dieses Enzyms ist nur im Nervengewebe als Überträgersubstanz bekannt. Ihr Vorkommen in der nervenlosen

Plazenta verlangt eine andere Deutung. Als Puffersystem wurden die Cholinesterasen von BERGMANN und SEGAL (1955) sowohl in leitfähigem wie in nicht leitfähigem Gewebe gedeutet. DASTUGUE und Mitarb. (1960) dagegen dachten an eine direkte Beteiligung des Enzyms am Transport bestimmter Substanzen durch die Plazentaschranke. Die histochemische Lokalisation des Enzyms im Syncytium, der Grenze zum mütterlichen Blut, und in den Gefäßen, der Grenze zum fetalen Blut, kommt beiden Theorien entgegen.

Als ein besonderes morphologisches Substrat, welches wiederholt mit Transportfunktionen in Verbindung gebracht wurde, sind die sogenannten Hofbauerzellen zu erwähnen. Mit elektronenmikroskopischen Untersuchungen konnten BARGMANN und KNOOP (1959) beweisen, daß die Hofbauerzellen aus Histiocyten entstehen, in die sie sich wieder rückverwandeln können. GELLER (1957) faßte die Hofbauerzellen als besonderen Funktionszustand der Histiocyten mit Makrophageneigenschaften auf. Sie kommen auch in reifen Plazenten vor und sind daher nicht ein Zeichen der Unreife der Plazenta (THOMSEN und NETZ 1955, BLEYL 1962). HORKY (1964) hatte den Eindruck, als ob die Hofbauerzellen zwischen dem Syncytium und den fetalen Kapillaren wandern, um eine Transportfunktion auszuführen. Diese Ansicht wurde auch von GELLER (1957) sowie THOMSEN und NETZ (1955) auf Grund weiterer morphologischer und histochemischer Befunde vertreten. In gut vaskularisierten Resorptionszotten liegen sie in der Ruheform vor und sind dann von Fibrocyten nicht zu unterscheiden (BARGMANN 1959). Bei Erschwerung des Stoffaustausches wie beim Diabetes mellitus erscheinen sie dagegen in größerer Anzahl als normal, um wieder ihre Transportfunktionen aufzunehmen (HORKY 1964). Voraussetzung für solche aktive Zellfunktion ist eine reichliche enzymatische Ausstattung. Entsprechend konnten in den eigenen Untersuchungen verschiedene Enzyme, nämlich die unspezifischen Esterasen, die saure Phosphatase, die 5-Nukleotidase, die Arylsulfatase und die Leucinaminopep-

tidase in den Hofbauerzellen lokalisiert werden.

3. Kohlehydratstoffwechsel

Die Beobachtung, daß die Glykogenkonzentration und die Glucose-6-phosphataseaktivität in der Plazenta zu Beginn der Schwangerschaft hoch sind, um dann in gleichem Maße abzunehmen wie sie in der fetalen Leber ansteigen, führte VILLEE (1953) zu der Theorie, daß die Plazenta als Hilfsleber die Funktionen im Kohlehydratstoffwechsel wahrnimmt, bis die fetale Leber dazu selbst in der Lage ist. Bis zur 10. - 12. Woche enthält der Trophoblast, besonders die Langhansschicht, reichlich Glykogen. Mit der Reifung der Plazenta vermindert sich der Glykogengehalt. Erst in späteren Stadien kommt es in Trophoblast und Stroma infarzierter und ischämischer Zottenareale wieder zu stärkeren Glykogenablagerungen. Diese Degenerationsfelder zeigen gleichzeitig eine erhöhte Aktivität an alkalischer Phosphatase und erhöhten Calciumgehalt (VILLEE 1953, Mc. KAY und Mitarb. 1958, SNOECK 1958). VILLEE (1953) nimmt an, daß die reife Plazenta die Fähigkeit zur Glykogensynthese fast ganz verloren hat. Glucose als Baustein des Glykogens wird vom Syncytium durch aktiven Transport aus dem mütterlichen Blut resorbiert (VILLEE 1953). An diesem Vorgang könnte die alkalische Phosphatase beteiligt sein, indem sie Phosphationen zur Aktivierung der Glucose liefert. Es ist auffallend, daß die Glucose-6-phosphatase bisher nur in solchen Organen nachgewiesen werden konnte, die mit der Resorption der Glucose zu tun haben, nämlich in der Leber, der Niere, im Dünndarm und in der Plazenta. Die Resorptionsform der Glucose ist das aktivierte Hexose-6-phosphat. Die Glucose-6-phosphatase ist als Hydrolase nach CORI (1953) an der weiteren Verarbeitung der aktivierten Glucose, z.B. der Abspaltung der Phosphatgruppe und der Freisetzung von Glucose ins Blut, beteiligt. Die beiden Fermente wurden mit hoher Aktivität im Bürstensaum des Syncytiums lokalisiert, die Glucose-6-

phosphatase auch an der basalen Grenze des Trophoblasten zum Stroma.

Für die resorbierte Glucose stehen verschiedene Stoffwechselmöglichkeiten offen. Eine Möglichkeit ist der sofortige aerobe oder anaerobe Abbau in der Plazenta zur Energiegewinnung (VILLEE 1953, KYANK 1954). Ein aktiver Pentosephosphatzyklus, der Zitronensäurezyklus (VILLEE 1953) und wahrscheinlich auch ein vollständiges Enzymsystem für die Endoxydation (HAGERMANN 1962) gewährleisten den vollständigen Abbau zu CO_2 und H_2O. Die Umwandlung der Glucose in Glykogen erfolgt unter Mitwirkung dephosphorylierender Enzyme, zu denen wiederum die alkalische Phosphatase und die Glucose-6-phosphatase zu rechnen sind. Ein gewisser Glykogenvorrat in der Plazenta ist Voraussetzung für die Aufgabe, den fetalen Blutzuckerspiegel zu regulieren (VILLEE 1953).

Im Kohlehydratstoffwechsel des Feten spielt neben der Glucose die Fructose eine entscheidende Rolle. Die Quelle der fetalen Fructose ist die Plazenta, in der Glucose-6-phosphat unter Einwirkung einer Isomerase und einer unspezifischen alkalischen Phosphatase in Fructose umgewandelt werden kann (ROUX und VILLEE 1959).

Neben der alkalischen Phosphatase und der Glucose-6-phosphatase hat auch die ß-Galaktosidase bestimmte Funktionen im Kohlehydratstoffwechsel. Ihr Wirkungsbereich liegt mehr im Stoffwechsel des Milchzuckers. Als Hydrolase, Transferase und Synthetase ist sie sowohl am Abbau wie Umbau und Aufbau von Galaktosiden, Di- und Oligosacchariden beteiligt. Bei ihrer histochemischen Lokalisation fällt auf, daß nicht nur das Syncytium, sondern in gleicher Stärke auch der Cytotrophoblast Enzymaktivität besitzen. Auch die Gefäßwände müssen auf Grund ihrer Galaktosidaseaktivität an diesen Prozessen beteiligt sein.

4. Eiweißstoffwechsel

Sowohl die Aminosäuren, die Bausteine der Proteine, als auch zahlreiche am Eiweißstoffwechsel beteiligte Enzyme konnten in der Plazenta nachgewiesen werden. Zu diesen Enzymen gehören die Transaminasen GOT und GPT (MARSILLI und PROVENZAL 1954), Amidasen wie die Arginase (BOTELLA-LLUSIA 1936), Proteasen und Peptidasen (VESCIA und FIDANZA 1949), Monoamin- und Diaminoxydasen (SNOECK 1958). ROUX und VILLEE (1959) erklärten den hohen Aminosäurespiegel im fetalen Blut durch aktive und selektive Transportvorgänge an der Plazentaschranke. DANCIS und Mitarb. (1957) konnten beim Meerschweinchen mit markierten Molekülen den Beweis erbringen, daß auch ganze Proteinmoleküle diese Schranke passieren können. Es ist bekannt, daß Aminosäuren rasch in Plazentaproteine eingebaut werden (JOEL und Mitarb. 1961). Es konnte auch gezeigt werden, daß die verschiedenen Komponenten des proteinsynthetisierenden Systems, wie aktivierende Enzyme, Transfer-RNS, Mikrosomen, ATP und GTP in der Plazenta vorhanden sind (HAGERMANN 1962). Einzelheiten des Eiweißstoffwechsels in der Plazenta blieben aber bisher ungeklärt. Die Synthese von Proteinen und Nukleoproteinen ist jedoch unbestritten. KELLEHER und Mitarb. (1963) konnten bei Ratten am Termin zeigen, daß der größere Teil der fetalen Blutproteine von der fetalen Leber und nicht von der Plazenta gebildet wird. Die basophilen Abschnitte des Syncytiums scheinen den Aufbau der Plasmaproteine des Feten zu regeln, bis die fetale Leber diese Funktion selbst übernehmen kann (MEDINA und PRATA-MARTINS 1962). Histochemische Untersuchungen deckten eine eigenartige Beziehung zwischen der Basophilie des Syncytiums und der alkalischen Phosphatase auf. Zu Beginn der Schwangerschaft besitzt nur der syncytiale Bürstensaum eine alkalische Phosphatase, während das Cytoplasma stark basophil reagiert. Mit fortschreitender Schwangerschaft greift die alkalische Phosphatase bei zunehmender Aktivi-

tät auf das Cytoplasma über, während die Basophilie in entsprechendem Maße abnimmt (WISLOCKI und DEMPSEY 1945, SIPUNOVA 1953). Die Annahme, daß die Basophilie besonders durch Ribonukleinsäuren bedingt ist, wurde durch DICKSON und BULLMER (1960) bestätigt. Das geschilderte Verhalten wird daher so erklärt, daß die Ribonukleinsäuren einer enzymatischen Hydrolyse durch die alkalische Phosphatase unterliegen und deshalb bei ansteigender Phosphataseaktivität abnehmen.

Die alkalische Phosphatase kann auf zweierlei Arten in den Nukleoproteinstoffwechsel eingreifen. Durch Dephosphorylierung kann sie am Abbau von Nukleotiden und Nukleinsäuren mitwirken. Andererseits kann sie durch Bereitstellung von Phosphationen zur Nukleotidsynthese beitragen (DEMPSEY und WISLOCKI 1946). Ribonukleinsäuren und Proteine werden im Nukleolus synthetisiert und dann ans Cytoplasma abgegeben (STARK und KLINHART 1956). BRADFIELD (1950) beschrieb die Anwesenheit der alkalischen Phosphatase auch bei der Synthese fibrillärer Proteine, im Unterschied zur Synthese globulärer Proteine, an der sie nicht beteiligt zu sein scheint.

Von den in dieser Arbeit untersuchten Hydrolasen spielen außer der alkalischen Phosphatase auch die saure Phosphatase, die 5-Nukleotidase, die ATP-ase, die Phosphoamidase und die LAP eine Rolle im Stoffwechsel der Proteine und Nukleinsäuren. Übereinstimmend sind alle fünf Enzyme mit stärkerer Aktivität im Syncytium nachzuweisen, dessen aktive Rolle im Eiweißstoffwechsel damit unterstrichen wird. Aber auch die Langhansschicht verdient diesbezügliche Aufmerksamkeit. Bei der sauren Phosphatase, der LAP und der Phosphoamidase stand ihre Enzymaktivität derjenigen im Syncytium nicht nach. Die 5-Nukleotidase gab in den Langhanszellen eine geringere Reaktion, aber mit auffallender Kernaktivität. Nur die alkalische Phosphatase war auf das Syncytium allein beschränkt.

In Geweben, in denen sich Vorgänge wie Verdauung und

Autolyse abspielen, finden sich in besonderer Menge Lysosomen. Diese sind reichlich mit Fermenten ausgestattet. Das typische lysosomale Enzym ist aber die saure Phosphatase, die in den Abbau von Zellbausteinen wie Nukleinsäuren, Proteinen und auch von Glykogen und Mukopolysacchariden eingeschaltet sein dürfte. Aktivität an saurer Phosphatase zeigten auch die Hofbauerzellen, in denen außerdem unspezifische Esterasen, LAP, Arylsulfatase und die 5-Nukleotidase lokalisiert werden konnten. Auf Grund der Phosphataseaktivität glaubt THOMSEN (1956), daß die Hofbauerzellen einen wesentlichen Anteil an der funktionellen Leistung, auch der reifen Plazenta, besitzen. Der gelungene Nachweis weiterer Enzyme unterstreicht diese Bedeutung. Während die LAP, deren größter Teil der Aktivität im Zottenstroma lokalisiert ist, verschiedene Reaktionen im Abbau, Umbau und Aufbau von Proteinen katalysieren kann, liegt die Spezifität der 5-Nukleotidase mehr im Gebiet des Nukleinsäurestoffwechsels. Gegenüber den anderen am Proteinstoffwechsel beteiligten Enzymen fällt ihre hohe Aktivität in den Fibrocyten des Zottenstromas und in den Gefäßen, besonders in den Endothelien auf. Die Gefäßreaktion hat die 5-Nukleotidase mit der ATP-ase gemeinsam. Während die 5-Nukleotidase spezifisch auf Mononukleotide einwirkt, spaltet die ATP-ase endständige Phosphatgruppen aus Substraten wie ATP, ITP, GTP, CTP ab. In den Gefäßwänden und in den Fibrocyten des Stromas dürften sich spezifische Prozesse des Proteinstoffwechsels abspielen.

5. Fettstoffwechsel

Es ist anzunehmen, daß die Plazenta auch einen eigenen Fettstoffwechsel besitzt. Nach MEDINA und PRATA-MARTINS (1962) erreicht der Lipidgehalt der Plazenta sein Maximum am Termin. HAGERMANN (1962) und VILLEE (1951) stimmten darin überein, daß die Plazenta und die fetalen Gewebe neutrale Lipide, Phospholipide und verschiedene Steroide aus Acetessigsäure und anderen Vorläufern synthetisieren

können. Der Fetus ist also nicht auf die Plazentapassage mütterlicher Lipide angewiesen, die zumindest beim Meerschweinchen, beim Kaninchen und bei der Ratte nur sehr gering ist (GOODWATER und STETTEN 1947, POPJAK 1954). In der Plazenta des Menschen sind Lipasen nachgewiesen. Die Lipasereaktion ist zwar reversibel, aber es gibt immer mehr Beweise, daß die Fettsynthese nicht durch Umkehr der Hydrolyse erfolgt (VILLEE 1953). Die Enzyme der Fettsäuresynthese konnten ebenfalls in der Plazenta nachgewiesen werden (HOSOYA u.a. 1960).

Von den untersuchten Hydrolasen hat nur die unspezifische Esterase bzw. Lipase direkte Beziehung zum Fettstoffwechsel. Ihre Aktivität war während der ganzen Schwangerschaft im Trophoblasten sehr ausgeprägt, stärker im Syncytium als in den Langhanszellen. Auch die Hofbauerzellen und in geringerem Maße in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft auch die Gefäße scheinen in diese Stoffwechselprozesse einbezogen zu sein.

6. Endokrine Funktion

Die Plazenta wurde schon als Produktionsstätte der verschiedensten Hormone, insbesondere von Hypophysen- und Nebennierenrindenhormonen angesprochen (DICZFALUSY 1960). Sicher erscheint nur die Synthese von Oestrogenen im Syncytiotrophoblasten und von Choriongonadotropinen im Cytotrophoblasten. Wahrscheinlich wird in den Langhanszellen auch Progesteron synthetisiert.

Für die Oestrogensynthese im Syncytium ist die ungestörte Funktion des fetalen Kreislaufes und die Einwirkung von HCG nötig (SNOECK 1958). RYAN (1958) konnte beweisen, daß die Plazenta Androgene, die Zwischenprodukte der physiologischen Oestrogensynthese, in Oestradiol und Oestriol umwandeln kann. Ein Beweis ist auch die Oestrogenproduktion in syncytialen, ins Kaninchenauge transplantierten Zellverbänden. Für die HCG - Bildung in den Langhanszellen wird die Parallelität zwischen der

Entwicklung der Langhanszellen und des Hormonspiegels angeführt (WIELENGA und WILLIGHAGEN 1962, BARGMANN 1957). Die HCG - Aktivität im Serum erreicht ihr Maximum im dritten Schwangerschaftsmonat, zu dem Zeitpunkt, an dem auch die Langhansschicht am stärksten ausgeprägt ist. Vereinzelt sind Langhanszellen bis zum Termin nachweisbar. Diese würden genügen, um die Basalsekretion an HCG aufrechtzuerhalten (THOMSEN und BLANKENBURG 1956). Gewebekulturen von Langhanszellen produzierten HCG (BERTOLINI 1964). Die PAS - Reaktion ist im zweiten und dritten Monat, der Zeit hoher HCG - Ausscheidung, in den Langhanszellen besonders stark positiv. Allerdings ist diese Reaktion für HCG nicht spezifisch. Während die Beweise für die Oestrogen- und Gonadotropinproduktion als ausreichend angesehen werden, ist die Progesteronproduktion nicht endgültig bewiesen worden.

Unter den in dieser Arbeit untersuchten Hydrolasen fanden sich keine Enzyme, die spezifisch an der Hormonsynthese beteiligt sind. Die alkalische Phosphatase ist nicht nur in den syncytio-sinusoidalen Membranen, dem Ort des Stoffaustausches zwischen mütterlichem und fetalem Blut, sondern auch im übrigen Syncytium lokalisiert. Aus diesem Befund leitete THOMSEN (1956) eine Beteiligung dieses Enzyms an der Hormonsynthese ab. Dieser Schluß scheint m.E. doch gewagt zu sein, zumal gerade die alkalische Phosphatase in ihrer Funktion sehr unspezifisch ist. Der Befund einer Aktivität aller untersuchten Hydrolasen im Trophoblasten, besonders im Syncytium, läßt nur die Feststellung zu, daß diese Strukturen eine hohe Stoffwechselaktivität besitzen müssen. Direkte Schlüsse auf die endokrine Funktion sind nicht möglich.

Zusammenfassung

In vorliegender Untersuchung wurden mit histochemischen Methoden zwölf Fermente aus der Gruppe der Hydrolasen in der menschlichen Plazenta lokalisiert. Es wurden insgesamt neunundzwanzig Plazenten im Alter von sieben Wochen (p.m.) bis zum Termin bzw. bis zur 42. Woche in drei Fällen von Übertragung bearbeitet. Die Untersuchungen wurden an unfixierten Kryostatschnitten mit aus der Literatur bekannten Methoden durchgeführt.

Eine hohe Stoffwechselaktivität liegt im Syncytium der Zotten vor. In ihm konnten alle untersuchten Fermente nachgewiesen werden. Besonders die unspezifischen Esterasen und Lipasen, die alkalische und saure Phosphatase, die 5-Nukleotidase, die Arylsulfatase, die ß-D-Galaktosidase und die ATP-ase weisen eine hohe syncytiale Aktivität auf, während die Cholinesterasen, die Glucose-6-phosphatase, die Phosphoamidase, die Leucinaminopeptidase und die Carboanhydrase weniger stark reagieren.

Gegenüber dem Syncytiotrophoblasten hat der Cytotrophoblast ein weniger Enzyme umfassendes Spektrum aufzuweisen. So sind in dieser Gewebsstruktur die Cholinesterasen, die alkalische Phosphatase und die Glucose-6-phosphatase histochemisch nicht zu erfassen. Die unspezifischen Esterasen, die 5-Nukleotidase und die ATP-ase reagieren schwächer als im Syncytium. Nur die saure Phosphatase, die Phosphoamidase, die Arylsulfatase, die ß-D-Galaktosidase und die Carboanhydrase haben im Cytotrophoblasten eine gleich hohe Aktivität wie im Syncytiotrophoblasten.

Im Vergleich zum Trophoblasten haben die übrigen Zottenstrukturen eine deutlich geringere Enzymaktivität. Im Stroma sind mit geringer Aktivität die unspezifischen Esterasen, die 5-Nukleotidase, die Arylsulfatase, die ß-D-Galaktosidase und die ATP-ase zu lokalisieren. Ob die geringe und unregelmäßige Stromareaktion der sauren

Phosphatase und der Glucose-6-phosphatase einer echten Enzymaktivität entspricht, ist fraglich.Eine Ausnahme macht die Leucinaminopeptidase, die gerade im Stroma eine hohe Aktivität entwickelt.

Die Gefäßwände zeigen eine starke Beteiligung an den enzymatischen Reaktionen. Sowohl die 5-Nukleotidase wie die ATP-ase weisen eine hohe und gleichbleibende Aktivität auf, eine geringere auch die Arylsulfatase, die ß-D-Galaktosidase und die Leucinaminopeptidase.Bei den Cholinesterasen sind die Gefäße der Hauptort der Enzymaktivität, während die unspezifischen Esterasen und Lipasen nur wenig Gefäßaktivität erst in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft aufweisen.

In den Hofbauerzellen konnten die unspezifischen Esterasen und Lipasen, die saure Phosphatase, die 5-Nukleotidase, die Arylsulfatase und die Leucinaminopeptidase lokalisiert werden.

Die eigenen histochemischen Befunde in jungen und reifen Plazenten wurden mit den Ergebnissen anderer Autoren verglichen. Dabei wurden auch biochemische Arbeiten über die intrazelluläre Verteilung der Enzyme berücksichtigt. In dem Untersuchungsmaterial sind ein Fall von Eklampsie und Präeklampsie enthalten. Die Ergebnisse dieser zwei Fälle werden in einem gesonderten Kapitel ebenfalls im Vergleich mit der Literatur dargestellt. Im zweiten Teil der Arbeit werden die in diesen Untersuchungen gewonnenen Ergebnisse in Beziehung zu den vielfältigen Funktionen der Plazenta gesetzt und die Beteiligung dieser Enzyme bei aktiven Transportvorgängen an der Plazentaschranke,im Kohlehydrat-, Eiweiß- und Fettstoffwechsel sowie bei der Hormonproduktion der Plazenta diskutiert.

Tabelle Nr. 1

Übersicht über die Herkunft und die klinischen Daten des Untersuchungsmaterials.

Fall-Nr.	Alter d.Pat.	Journal-Nr.	Anamnese Part.	Abort.	Alter d.Plaz.	Klin. Verlauf
1	37 a	478/1967	3	1	7.Wo.	Interruptio
2	34 a	1298/1967	1	3	8.Wo.	Tubarabort
3	25 a	726/1967	1	0	8.Wo.	Abort
4	32 a	1367/1966	2	1	8.Wo.	Tubarabort
5	38 a	1309/1967	0	0	9.Wo.	Tubargrav.
6	30 a	481/1967	4	1	9.Wo.	Interruptio
7	30 a	194/1967	3	4	11.Wo.	Interruptio
8	26 a	36/1967	2	0	11.Wo.	Abort
9	39 a	592/1967	3	0	13.Wo.	Interruptio
10	34 a	68/1967	2	0	13.Wo.	Interruptio
11	30 a	868/1967	0	1	14.Wo.	Mola ventosa
12	31 a	197/1967	2	0	14.Wo.	Interruptio
13	17 a	34/1967	0	0	14.Wo.	Abort
14	27 a	225/1967	2	0	15.Wo.	Interruptio
15	22 a	611/1966	0	2	15.Wo.	Abort
16	37 a	923/1967	1	0	18.Wo.	Abort
17	23 a	1056/1967	0	0	20.Wo.	Abort
18	24 a	1015/1967	1	0	22.Wo.	Abort
19	32 a	1467/1966	0	0	23.Wo.	Abort
20	28 a	778/1966pp	0	0	36.Wo.	Präeklampsie
21	28 a	1277/1967	1	0	38.Wo.	Spontangeb.

Tabelle Nr. 1, Fortsetzung

Fall-Nr.	Alter d.Pat.	Journal-Nr.	Anamnese Part.	Abort.	Alter d.Plaz.	Klin. Verlauf
22	30 a	1551/1967	0	0	40.Wo.	Eklampsie
23	37 a	1273/1967	2	0	40.Wo.	Spontangeb.
24	38 a	1274/1967	1	0	40.Wo.	Spontangeb.
25	30 a	1386/1967	1	0	40.Wo.	Spontangeb.
26	18 a	1376/1967	0	0	40.Wo.	Spontangeb.
27	21 a	1280/1967	0	0	42.Wo.	Übertragung
28	29 a	1385/1967	1	0	42.Wo.	Übertragung
29	38 a	1952/1966	0	0	42.Wo.	Sectio caes.

Tabelle Nr. 2
Lokalisation der UNSPEZIFISCHEN ESTERASEN in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen
Methode nach NACHLAS und SELIGMAN (1949), modifiziert nach GOMORI (1950).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
1	7.Wo.	+++	++	++	-	++
2	8.Wo.	+++	++	+	-	-
3	8.Wo.	+++	++	++	-	++
4	8.Wo.	++	++	-	-	+
5	9.Wo.	+++	++	-	-	-
6	9.Wo.	+++	++	+	-	+
7	11.Wo.	+++	++	+	-	+
8	11.Wo.	++	+	+	-	+
9	13.Wo.	++	++	+	-	+
10	13.Wo.	+++	++	-	-	+
11	14.Wo.	+++	++	+	-	+
12	14.Wo.	+++	-	++	-	+
13	14.Wo.	++	++	+	-	++
14	15.Wo.	+++	++	+	-	+
15	15.Wo.	+++	++	-	-	-
16	18.Wo.	+++	++	+	+	++
19	23.Wo.	++	+	+	+	++
20	36.Wo.	+++	++	-	++	++
21	38.Wo.	+++	++	-	+	+
22	40.Wo.	+++	++	-	+	++
23	40.Wo.	+++	++	+	++	+
24	40.Wo.	+++	++	+	++	++
27	42.Wo.	+++	++	+	+	++
29	42.Wo.	++	++	-	++	-

Tabelle Nr. 3
Lokalisation der CHOLINESTERASEN in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen
Methode nach GOMORI (1952).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
2	8.Wo.	++	-	-	+++	-
5	9.Wo.	++	-	-	++	-
11	14.Wo.	+	-	-	-	-
16	18.Wo.	+	-	-	-	-
17	20.Wo.	++	-	-	++	-
18	22.Wo.	+++	-	-	+++	-
21	38.Wo.	-	-	-	++	-
22	40.Wo.	++	-	-	++	-
23	40.Wo.	+	-	-	++	-
24	40.Wo.	+	-	-	++	-
25	40.Wo.	+	-	-	+++	-
26	40.Wo.	+	-	-	+++	-
27	42.Wo.	-	-	-	++	-
28	42.Wo.	-	-	-	+++	-

Tabelle Nr. 4
Lokalisation der CHOLINESTERASEN in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen
Methode nach KÖLLE (1949), modifiziert nach GEREBTZOFF (1953).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
11	14.Wo.	+	-	-	-	-
16	18.Wo.	++	-	-	+	-
17	20.Wo.	+	-	-	++	-
18	22.Wo.	+	-	-	+++	-
21	38.Wo.	+	-	-	++	-
22	40.Wo.	+	-	-	+	-
23	40.Wo.	+	-	-	++	-
24	40.Wo.	-	-	-	++	-
25	40.Wo.	+	-	-	++	-
26	40.Wo.	+	-	-	++	-
27	42.Wo.	-	-	-	+++	-

Tabelle Nr. 5
Lokalisation der ALKALISCHEN PHOSPHATASE in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen
Methode nach PEARSE (1960).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
1	7.Wo.	++	-	-	-	-
4	8.Wo.	++	-	-	-	-
6	9.Wo.	++(+)	-	-	-	-
7	11.Wo.	+++	-	-	-	-
9	13.Wo.	++(+)	-	-	-	-
10	13.Wo.	+++	-	-	-	-
11	14.Wo.	++	-	-	-	-
12	14.Wo.	++	-	-	-	-
13	14.Wo.	++	-	-	-	-
14	15.Wo.	+(+)	-	-	-	-
15	15.Wo.	++	-	-	-	-
16	18.Wo.	++	-	-	-	-
17	20.Wo.	++	-	-	-	-
18	22.Wo.	+++	-	-	-	-
19	23.Wo.	++	-	-	-	-
20	36.Wo.	+++	-	-	-	-
22	40.Wo.	+(+)	-	-	-	-
23	40.Wo.	+++	-	-	-	-
25	40.Wo.	++	-	-	-	-
26	40.Wo.	++	-	-	-	-
27	42.Wo.	+(+)	-	-	-	-
28	42.Wo.	+(+)	-	-	-	-
29	42.Wo.	++	-	-	-	-

Tabelle Nr. 6
Lokalisation der ALKALISCHEN PHOSPHATASE in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen
Methode nach GOMORI (1939).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
3	8.Wo.	+	-	-	-	-
10	13.Wo.	++	-	-	-	+
11	14.Wo.	+++	-	-	-	-
13	14.Wo.	++	(+)	-	-	-
15	15.Wo.	++	-	-	-	-
16	18.Wo.	+++	-	+	-	+
19	23.Wo.	++	+	+	-	+
20	36.Wo.	+++	-	+	-	+
21	38.Wo.	+++	-	-	-	-
23	40.Wo.	++	-	-	-	-
24	40.Wo.	++	-	-	-	+
27	42.Wo.	++	-	-	-	-
29	42.Wo.	++	-	(+)	-	-

Tabelle Nr. 7

Lokalisation der SAUREN PHOSPHATASE in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen

Methode nach GROGG und PEARSE (1952).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
1	7.Wo.	++(+)	++	–	–	+
3	8.Wo.	++(+)	++	+	–	+
4	8.Wo.	++	+	+	(+)	+
6	9.Wo.	++	++	–	–	+
7	11.Wo.	++	++	–	–	(+)
8	11.Wo.	++	+	(+)	–	–
9	13.Wo.	+++	++	(+)	–	++
10	13.Wo.	++	++	(+)	–	+
11	14.Wo.	+++	+++	–	–	(+)
12	14.Wo.	++	++	+	+	+
13	14.Wo.	++	++	+	+	+
14	15.Wo.	+++	++(+)	+	–	–
15	15.Wo.	++	+	+	–	+
16	18.Wo.	+++	+	+	+	+(+)
17	20.Wo.	+	+	(+)	–	(+)
18	22.Wo.	+(+)	+	–	(+)	+
19	23.Wo.	++	+	(+)	+	+
20	36.Wo.	++	+	(+)	–	+(+)
21	38.Wo.	++	+	+	–	(+)
22	40.Wo.	++	–	+	(+)	+
25	40.Wo.	+(+)	(+)	+	–	(+)
26	40.Wo.	+	+	+	–	(+)
28	42.Wo.	+	(+)	–	–	–
29	42.Wo.	+	+	(+)	–	(+)

Tabelle Nr. 8
Lokalisation der SAUREN PHOSPHATASE in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen
Methode nach GOMORI (1950).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
4	8.Wo.	++	++	-	-	+
8	11.Wo.	+++	++(+)	+	-	-
11	14.Wo.	+++	++	+	-	+(+)
13	14.Wo.	++	++	+	-	++
15	15.Wo.	+(+)	+	-	-	-
16	18.Wo.	++	++	+	-	+(+)
19	23.Wo.	++	++	+	-	+(+)
20	36.Wo.	++(+)	-	+	-	++
29	42.Wo.	+	+	-	-	-

Tabelle Nr. 9

Lokalisation der 5-NUKLEOTIDASE in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen

Methode nach WACHSTEIN und MEISEL (1952).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
1	7.Wo.	+++	+	–	+(+)	–
3	8.Wo.	++	+	+	–	–
4	8.Wo.	++	+	–	–	–
6	9.Wo.	++	+	–	+(+)	++
7	11.Wo.	++	++	+(+)	+++	+++
8	11.Wo.	+++	+	–	++	++
9	13.Wo.	++	–	–	+	–
10	13.Wo.	++	+	–	++	(+)
11	14.Wo.	+++	++	+	+	++
12	14.Wo.	+++	+	–	+++	++
13	14.Wo.	+++	–	–	+++	++
14	15.Wo.	+++	+	+	++	++
15	15.Wo.	+++	–	+	+++	+
16	18.Wo.	++	+	+	+(+)	+
20	36.Wo.	+	(+)	++	++	–
21	38.Wo.	+(+)	+	+	+(+)	–
22	40.Wo.	+++	++	+	+(+)	–
23	40.Wo.	+(+)	+	+	+	+
24	40.Wo.	++	+	+	+(+)	–
27	42.Wo.	++	++	+	+(+)	+
29	42.Wo.	+++	++	+	+++	+

Tabelle Nr. 10
Lokalisation der GLUCOSE-6-PHOSPHATASE in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen
Methode nach CHIQUOINE (1953).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
2	8.Wo.	+++	-	+	-	-
5	8.Wo.	+++	-	-	-	-
6	9.Wo.	+(+)	-	-	-	-
7	11.Wo.	++	-	-	-	-
8	11.Wo.	++	-	+	-	-
10	13.Wo.	+	-	+	-	-
12	14.Wo.	++	-	-	-	-
13	14.Wo.	+(+)	-	+	-	-
14	15.Wo.	++	-	-	-	-
15	15.Wo.	++	-	-	-	-
20	36.Wo.	++	-	-	-	-
22	40.Wo.	+	-	-	-	-
29	42.Wo.	+	-	+	-	-

Tabelle Nr. 11

Lokalisation der PHOSPHOAMIDASE in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen

Methode nach MEYER und WEINMANN (1955).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
1	7.Wo.	+	-	-	-	-
3	8.Wo.	++	++	-	-	-
4	8.Wo.	++	++	-	-	-
5	9.Wo.	++	++	-	-	-
6	9.Wo.	+	+	-	-	-
7	11.Wo.	+	+	-	-	-
9	13.Wo.	++	++	-	-	-
10	13.Wo.	+	+	-	-	-
11	14.Wo.	+	-	-	-	-
12	14.Wo.	+	+	-	-	-
13	14.Wo.	-	-	-	-	-
16	18.Wo.	+	+	-	-	-
17	20.Wo.	++	-	-	-	-
18	22.Wo.	++	+	-	-	-
19	23.Wo.	+	+	-	-	-
20	36.Wo.	++	+	-	-	-
21	38.Wo.	+	+	-	-	-
23	40.Wo.	+	+	-	-	-
24	40.Wo.	++	+	-	-	-
27	42.Wo.	+	+	-	-	-

Tabelle Nr. 12
Lokalisation der ARYLSULFATASE in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen
Methode nach RUTENBURG, COHEN und SELIGMAN (1952).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
1	7.Wo.	++	++	–	(+)	+
3	8.Wo.	++	++	(+)	(+)	+
4	8.Wo.	++	++	+	(+)	–
6	9.Wo.	+++	+++	+	(+)	–
7	11.Wo.	++	++	+	+	–
8	11.Wo.	++(+)	++(+)	+	+	–
9	13.Wo.	++(+)	++(+)	+	(+)	–
10	13.Wo.	+++	+++	(+)	+	+
11	14.Wo.	+++	+++	(+)	–	(+)
12	14.Wo.	+++	++	+	–	–
13	14.Wo.	+++	+++	+	+	+
14	15.Wo.	+++	++(+)	+	+	+
15	15.Wo.	+++	+++	(+)	+(+)	(+)
16	18.Wo.	+++	+++	+	+	+
17	20.Wo.	++	++	(+)	+	+
18	22.Wo.	++	+(+)	–	++	–
19	23.Wo.	+(+)	+	(+)	+	–
20	36.Wo.	+++	++	+	++	+
21	38.Wo.	+(+)	+	+	+	(+)
22	40.Wo.	+	+	(+)	+	(+)
25	40.Wo.	++	+	+	(+)	(+)
26	40.Wo.	++	+	+	+	(+)
28	42.Wo.	++	++	+	(+)	(+)
29	42.Wo.	+++	++	++	++	(+)

Tabelle Nr. 13

Lokalisation der ß-GALAKTOSIDASE in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen

Methode nach RUTENBURG und Mitarb. (1958).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
1	7.Wo.	+(+)	+(+)	–	–	–
3	8.Wo.	++	++	–	–	–
4	8.Wo.	+++	+++	+	+	–
6	9.Wo.	++	++	–	(+)	–
7	11.Wo.	++	++	–	+	–
8	11.Wo.	+++	+++	+	(+)	–
9	13.Wo.	+++	++	–	+	–
10	13.Wo.	++	++	–	+	–
11	14.Wo.	++	+	–	–	–
12	14.Wo.	+++	+++	–	+	–
13	14.Wo.	+++	+++	–	+	–
14	15.Wo.	+++	+++	–	+	–
15	15.Wo.	+++	+++	+	(+)	–
16	18.Wo.	++	++	–	+	–
17	20.Wo.	+	+	–	(+)	–
18	22.Wo.	++	++	+	–	–
19	23.Wo.	+	+	+	+	–
20	36.Wo.	++	++	–	++	–
22	40.Wo.	+	+	–	+	–
25	40.Wo.	+	+	+	+	–
26	40.Wo.	+	+	+	+	–
28	40.Wo.	+	+	+	+	–
29	42.Wo.	+(+)	++	(+)	+(+)	–

Tabelle Nr. 14

Lokalisation der LEUCINAMINOPEPTIDASE in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen

Methode nach NACHLAS, CRAWFORD und SELIGMAN (1957).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
1	7.Wo.	+	+	(+)	+	(+)
6	9.Wo.	++	+++	+(+)	+	+
7	11.Wo.	+	+	+	+	-
8	11.Wo.	+(+)	+(+)	+	+	-
9	13.Wo.	++(+)	++(+)	++(+)	++	-
10	13.Wo.	++	++	+	++	+
11	14.Wo.	++(+)	++(+)	++	++	+
12	14.Wo.	++	++	+(+)	+(+)	++
13	14.Wo.	++	++	++(+)	++	+
14	15.Wo.	++	++	++	++	+
15	15.Wo.	+	+	++(+)	+	+
16	18.Wo.	++	++	+	++	++
17	20.Wo.	++	++	+++	+(+)	+
18	22.Wo.	++	++	+++	++	+
19	23.Wo.	++	++	++	+	+
20	36.Wo.	+	+	++	+	-
21	38.Wo.	+	+	(+)	+	-
22	40.Wo.	++	++	+(+)	++	+
25	40.Wo.	++	++	++	+	+
26	40.Wo.	++	++	++	+	+
28	42.Wo.	++	++	+(+)	+	+
29	42.Wo.	++	++	++(+)	+	-

Tabelle Nr. 15

Lokalisation der ATP-ase in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen

Methode nach PADYKULA und HERMANN (1955).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
1	7.Wo.	++(+)	+	–	++	–
3	8.Wo.	+++	+	+	++	–
6	9.Wo.	+++	++	+	(+)	–
7	11.Wo.	++	+	–	+	–
8	11.Wo.	+++	+(+)	+	(+)	–
9	13.Wo.	++	+	+	+	–
10	13.Wo.	+++	++	–	++	–
11	14.Wo.	++	+	+	–	–
12	14.Wo.	++	+	–	+	–
13	14.Wo.	++	++	+	(+)	–
14	15.Wo.	++	+	–	+	–
15	15.Wo.	++	+	+	–	–
16	18.Wo.	++	+	+	+++	–
17	20.Wo.	++	+	+	+++	–
18	22.Wo.	+	+	+	++	–
19	23.Wo.	+	+	–	++	–
20	36.Wo.	+	(+)	–	+	–
21	38.Wo.	+(+)	+(+)	+	++	–
22	40.Wo.	++	+	+	+++	–
23	40.Wo.	+(+)	+	–	++(+)	–
24	40.Wo.	+(+)	(+)	+	++	–
27	42.Wo.	+(+)	+	+	+++	–
29	42.Wo.	++	+	+	++	–

Tabelle Nr. 16
Lokalisation der CARBOANHYDRASE in der menschlichen Plazenta.

Eigene Untersuchungen
Methode nach KURATA (1953).

Plaz.Nr.	Alter d.Plaz.	Trophoblast Sync.	Trophoblast Cytotr.	Stroma	Gefäße	Hofb.z.
2	8.Wo.	+	+	-	-	-
5	9.Wo.	+++	+++	-	-	-
7	11.Wo.	-	-	-	-	-
9	13.Wo.	++	++	-	-	-
12	14.Wo.	+	+	-	-	-
14	15.Wo.	-	-	-	-	-
22	40.Wo.	+	+	-	-	-
23	40.Wo.	+	+	-	-	-
24	40.Wo.	(+)	(+)	-	-	-
27	42.Wo.	(+)	(+)	-	-	-

Tabelle Nr. 17

Verhalten der Fermente bei je einem Fall von Präeklampsie und Eklampsie im Vergleich mit Präparaten normaler Plazenten.

Ferment	36.Woche Präeklampsie	40.Woche Eklampsie
Unspezifische Esterase	↓	↓
Cholinesterase	fehlt	↑
Alkalische Phosphatase	↑	↓
Saure Phosphatase	↑	↑
5-Nukleotidase	↑	↑
Glucose-6-phosphatase	–	↓
Phosphoamidase	–	–
Arylsulfatase	↑	↓
ß-D-Galaktosidase	↑	–
Leucinaminopeptidase	↓	↓
Adenosintriphosphatase	↓	–
Carboanhydrase	–	–

Die Lokalisation der Fermente ist bei Präeklampsie und Eklampsie nicht verändert, nur die Intensität der Reaktion wechselt.

↑ = verstärkte Reaktion
↓ = abgeschwächte Reaktion
– = unveränderte Reaktion

Abbildungen

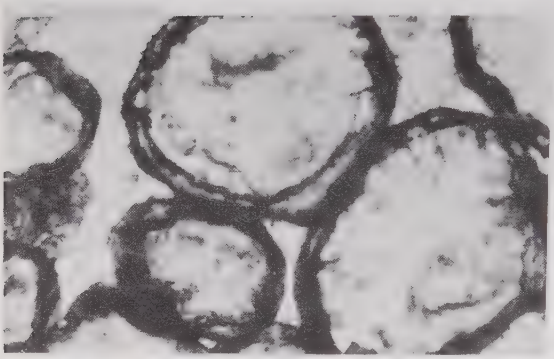


Abb. 1
5-Nukleotidase in Plazenta der 40. Schwangerschaftswoche (Methode n. Wachstein und Meisel 1952, Vergr. 160-fach).

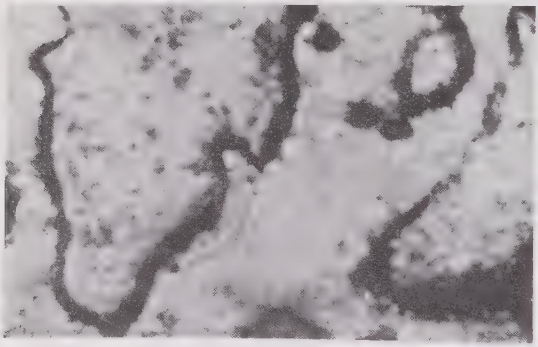


Abb. 2
Glucose-6-phosphatase in Plazenta der 8. Schwangerschaftswoche (Methode n. Chiquoine 1953, Vergr. 65-fach).

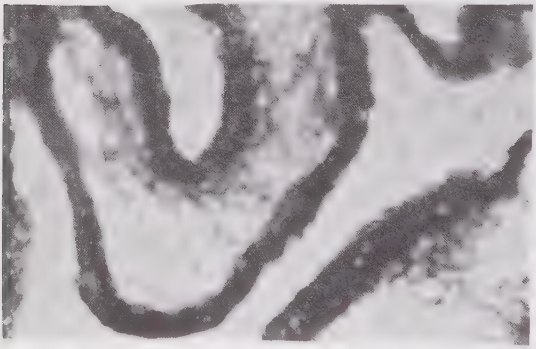


Abb. 3
Arylsulfatase in Plazenta der 9. Schwangerschaftswoche (Methode n. Rutenburg, Cohen u. Seligman 1952, Vergr. 126-fach).

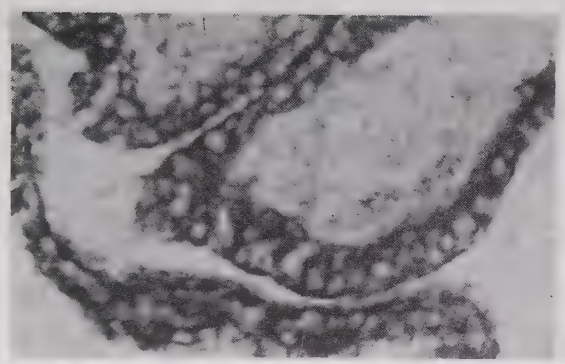


Abb. 4
ß-D-Galaktosidase in Plazenta der 9. Schwangerschaftswoche (Methode n. Rutenburg und Mitarb. 1958, Vergr. 126-fach).

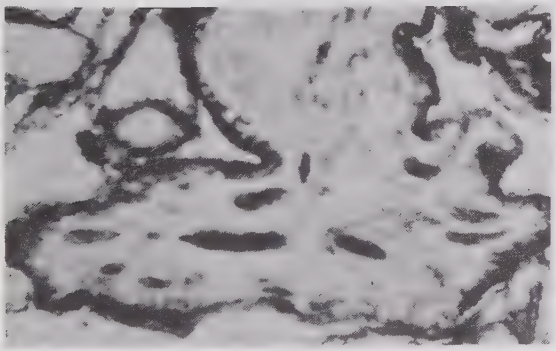


Abb. 5
ATP-ase in Plazenta der 18. Schwangerschaftswoche (Methode n. Wachstein und Meisel 1955, Vergr. 64-fach).

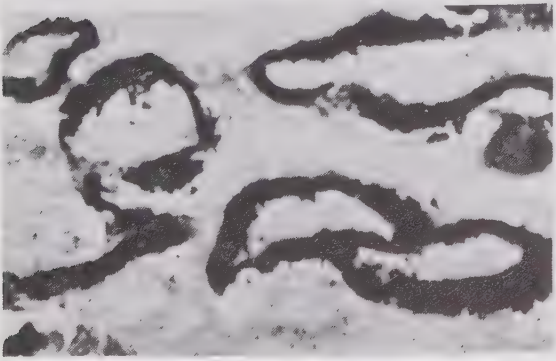


Abb. 6
Carboanhydrase in Plazenta der 8. Schwangerschaftswoche (Methode nach Kurata 1953, Vergr. 64-fach).

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

ABE M. — Investigation of placental ferments in various stages of pregnancy. Jap. J. Obst. Gynec. 15, 44 (1932)

AHMED Z.F. KING E.J. — Placental phosphatases. Biochim. Biophys. Acta 34, 313 (1959)

ALLFREY V. STERN H. MIRSKY A.E. — Some enzymes of isolated cell nuclei. Nature, 169, 128 (1952)

AMMON R. DIRSCHERL W. — Fermente, Hormone, Vitamine und die Beziehungen dieser Wirkstoffe zueinander. I Fermente. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1959)

ANSELMINO K.J. HOFFMANN F. — Über den Lipasegehalt der Plazenta. Arch. Gyn. 139, 202 (1930)

ARVY L. — Contribution l'histo enzymologie de l'ovaire. Z. Zellforschung 51, 406 (1959)

ASHMORE J. WEBER G. — Vitamins and hormones. The role of hepatic glucose-6-phosphatase in the regulation of carbohydrate metabolism.

ATKINSON W.B. — Studies on the effects of steroid sex hormones on alkaline phosphatase in the endometrium. In Engle E.T., Menstruation and its disorders, 3-21, C. Thomas, Springfield Illinois (1950).

BARGMANN W. — Über den Bildungsort der Choriongonadotropine und Plazentarsteroide. Gebh. u. Frauenhk. 17, 865 (1957).

BARGMANN W. KNOOP A. — Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Plazentazotten des Menschen. Z. Zellforschung 50, 472 (1959)

BARKA T. ANDERSON P.J. — Histochemistry theory, practice and Bibliography (1963)

BARNES A.C. EPPERSON J.W. — Studies in the cholinesterase-hormone relationship. Am. J. Obst. Gyn. 63, 326 (1952)

BARRNETT R.J. SELIGMAN A.M. — Histochemical demonstration of esterases by production of indigo. Science, 114, 579 (1951)

BECK E.I. CLARK L.C. — Plasma alkaline phosphatase. II Normative data for pregnancy. Am. J. Obst. Gyn. 60, 731 (1950)

BERGMANN F.
SEGAL R.
Zur Differenzierung der Cholinesterasen im Gewebe.
Biochim. Biophys. Acta, 16, 513 (1955)

BERLINER R.W.
ORLOFF J.
Carbonic anhydrase inhibitors.
Pharmacol. rev., 8, 137 (1956)

BERTOLINI R.
Anatomie der Plazenta.
Zbl. Gyn., 86, 1-7 (1964)

BIANCHI M.
La fenolsulfatasi della placenta nelle tossicosi gravidiche.
Pathologica 47, 39-41 (1955)

BIANCHI M.
VALLI P.
Phenolsulfatase in normal placenta.
Arch. E. Maragliano, Pathol. e Clin. 11, 39 (1955)

BLEYL U.
Histologische und fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an Hofbauerzellen.
Arch. Gyn. 197, 364 (1962)

BLEYL U.
MASCH B.
Histochemischer Nachweis der Carboanhydrase in Pankreas und Plazenta.
Klinische Wochenschrift 42, 402 (1964)

BOTELLA-LLUSIA J.
Über die Desaminierungsfunktion der menschlichen Plazenta.
J. Arch. Gyn. 160, 467 (1936)

BOTELLA-LLUSIA J.
Der Gehalt an Phosphatase in der menschlichen Plazenta.
Rev. clin. espan. 2, 334 (1941)

BOYER S.H.
Alkaline phosphatase in human sera and placentae.
Science 134, 1002 (1961)

BRADFIELD J.R.G.
Localisation of enzymes in cells.
Biol. Rev. 25, 113 (1950)

BRAUN-FALCO O.
Histoch. demonstr. of LAP in normal and pathol. skin.
J. Histochem. 5, 94 (1957)

BRAUN-FALCO O.
RATHJENS B.
Über die histochemische Darstellung der Kohlensäureanhydrase in normaler Haut.
Arch. klin. exp. Derm. 201, 73-82 (1955)

BURSTEIN R.
SOULE S.P.
BLUMENTHAL H.T.
Histogenesis of pathological processes in placentas of metabolism disease in pregnancy.
II The diabetic state.
Am. J. Obst. and Gyn. 74, 96 (1957)

BURSTONE M.S.
Histochemical demonstration of proteolytic activity in human neoplasmas.
J. nat. Cancer Inst. 16, 1149 (1956)

BURSTONE M.S. Histochemical demonstration of aminopeptidase. J. Histochem. Cytochem. 4, 217 (1956)

CHESSICK R.D. Histochemical study of the distribution of esterases. J. Histochem. Cytochem. 1, 471 (1953)

CHIQUOINE A.D. The distribution of glucose-6-phosphatase in the liver and kidney of the mouse. J. Histochem. Cytochem. 1, 429 (1953)

COHEN R.B. TSOU K.C. RUTENBURG S.H. SELIGMAN A.M. The colorimetric estimation and histochemical demonstration of ß-D-galactosidase. J. Biol. Chem. 195, 235 (1952)

CONCHIE J. FINDLAY J. LEVVY G.A. Mammalian glycosidases distribution in the body. Biochem. J. 71, 318 (1959)

CONCHIE J. HAY A.J. Mammalian glycosidases. The intracellular localization of ß-D-galactosidase, α-mannosidase, ß-N-acetylglucosaminidase and α-L-fucosidase in mammalian tissues. Biochem. J. 87, 354 (1963)

COONS U.B. Modification of the LINDERSTRØM-LANG technique. J. Exper. Med. Baltimore, 93, 173 (1951).

CORI G.T. Glycogen structure and enzyme deficiencies in glycogen storage. Harvey Lect. 48, 145 (1953)

CURZEN P. Variations in the enzyme histochemistry of the placenta. J. Obst. Gyn. Brit. Commonwealth, 71, 388 (1964)

DANCIS J. SHEFRON M. MONEY W.L. The transport of amino acids and plasma proteins across the placenta in the guinea pig. A. M. A. J. Dis. Child. 93, 8 (1957)

DASTUGUE G. BAUDON J. BASTIDE P. CARCASSIN M. Les enzymes placentaires. Quelques aspects de leur rôle physiopathologique. Biologie médicale, 6, 571 (1960)

De DUVE C. Lysosomes, a new group of cytoplasmic particles. Subcellular particles, Ronald, New York 128 (1959)

De DUVE C.
BERTHET J.
HERS G.H.
DUPRET L.
La système hexose phosphatasique. I Existence d'une glucose-6-phosphatase dans le foil.
Bull. Soc. Chim. Biol. (Paris), 31, 1242 (1949)

De DUVE C.
BERTHET J.
The use of differential centrifugation in the study of tissue enzymes.
Int. Rev. Cytol. 3, 225 (1954)

De DUVE C.
PRESSMAN B.C.
GIANETTO R.
WATTIAUX R.
APPELMANS F.
Tissue fractionation studies (intracellular distribution patterns of enzymes in rat liver tissues).
Biochem. J. 60, 604 (1955)

DEMPSEY E.W.
WISLOCKI G.B.
Histochemical contributions to physiology.
Physiol. Rev. 26, 1 (1946)

DEMPSEY E.W.
WISLOCKI G.B.
Further observations on the distribution of phosphatases in mammalian placentas.
Am. J. Anat. 80, 1 (1947)

DICKSON D.
BULMER D.
Observations on the placental giant cells of the rat.
J. Anat. London, 94, 418 (1960)

DICZFALUSY E.
Endocrine functions of the human placenta.
Acta Endocr. (Kbh.) 34, Suppl. 50, 129 (1960)

DODGSON K.S.
SPENCER B.
THOMAS J.
The distribution of arylsulfatase in the rat-liver cell.
Biochem. J. 53, XXXVi (1953)

DODGSON K.S.
SPENCER B.
WYNN C.H.
Studies on sulfatases. The arylsulfatases of human tissues.
Biochem. J. 62, 500 (1956)

DODGSON K.S.
SPENCER B.
Assay of sulfatases.
Meth. Biochem. Analyses 4, 211 (1957)

Du BOIS K.P.
POTTER V.R.
The assay of animal tissues for respiratory enzymes.
J. of Biol. Chem. 150, 185-195 (1943)

DUMAZERET C.
GHIGLIONE C.
BOZZI-TICHADOU M.
Proteinases of the human placenta.
Compt. rend. Soc. Biol. 150, 402 (1956)

FAND S.B.
LEVINE H.J.
ERWIN H.L.
A repraisal of the histochemical method for carbonic anhydrase.
J. Histochem. Cytochem. 7, 27 (1959)

FANTAL P.
ROME L.N.
Dephosphorylation in liver extracts.
Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci. 23, 20 (1945)

FREIMAN D.G.
KAPLAN N.
Studies on the histochemical differentiation of enzymes hydrolysing adenosine triphosphate.
J. Histochem. Cytochem. 8, 159 (1960)

FUHRMANN K.
Kolorimetrische Bestimmung und histochemischer Nachweis der Aminopeptidase an Geweben weiblicher Genitalorgane.
Zbl. Gyn. 81,1105 (1959)

GELLER H.F.
Über die sogenannten Hofbauerzellen in der reifen menschlichen Plazenta.
Arch. Gyn. 188, 481 (1957)

GELLER H.F.
Elektronenmikroskopische Befunde am Syncytium der menschlichen Plazenta.
Gebh. Fhk. 22, 1234 (1962)

GEREBTZOFF M.A.
Recherches histochemiques sur les acetylcholine et cholinesterases.
Acta Anat. 19, 366 (1953)

GIANETTO R.
De DUVE C.
Comparative study of the binding of acid phosphatase, ß-glucuronidase and cathepsin by rat-liver particles.
Biochem. J. 59, 433 (1955)

GIANETTO R.
VIALA R.
Intracellular distribution of rat-liver arylsulfatase as compared with that of acid phosphatase and glucose-6-phosphatase.
Science, 121, 801 (1955)

GOLDSTEIN B.
MILGRIM E.
Proteinasen (Kathepsin) in Embryo und Muttergewebe.
Ukr. Biokhem. J. 8, 168 (1935)

GOMORI G.
Microtechnical demonstration of phosphatase in tissue sections.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 42, 23 (1939)

GOMORI G.
Distribution of acid phosphatase in the tissues under normal and pathological conditions.
Arch. Path. 32, 189 (1941)

GOMORI G.
Histochemische Differenzierung der Esterasen durch Aktivatoren und Inhibitoren.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 67, 4 (1948)

GOMORI G.
Further studies on histochemical specifity of phosphatases.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 72, 449 (1949)

GOMORI G. An improved histochemical technic for acid phosphatase. Stain. Technol. 25, 81 (1950)

GOMORI G. Microscopic histochemistry. Univ. Chicago Press, Chicago, (1952)

GOMORI G. Chromogenic substrates for aminopeptidases. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 87, 559 (1954)

GOODWATER W.H. STETTEN W. Studies in fetal metabolism. J. Biol. Chem. 169, 723 (1947)

GOUTIER-PIROTTE GEREBTZOFF M.A. L'acétylcholinestérase dans la placenta du cobaye, premiers resultats de recherches histochemiques et biochemiques. Arch. Intern. Physiol. Biochim. 63, 445 (1955)

GRAF J. STOCKINGER L. Elektronenmikroskopische Darstellung der Adenosintriphosphatase im Flimmerepithel. Histochemie, 7, 251 (1966)

GROGG E. PEARSE A.G.E. A critical study of the histochemical techniques for acid phosphatase with a description of an azo dye method. J. Path. Bact. 64, 627 (1952)

HAGERMANN D.D. Enzymatic capabilities of the placenta. Fed. Proc. Washington, 21,785 (1962)

HAGERMANN D.D. VILLEE C.A. Transport functions of the placenta. Physiol. Rev. 30, 313 (1960)

HARD W.L. A histochemical and quantitative study of phosphatase in the placenta and fetal membranes of the guinea pig. Am. J. Anat. 78, 47 (1946)

HAUPTSTEIN P. Das Acetylcholin in der menschlichen Plazenta. Arch. Gyn. 151, 262 (1932)

HÄUSLER G. Zur Technik und Spezifität des histochemischen Carboanhydrasenachweises im Modellversuch und in Gewebsschnitten von Rattennieren. Histochemie, 1, 29 (1959)

HAYASHI M. Histochemical studies on the uterine ß-glucuronidase, sulfatase, esterase activities during the rat estrous cycle. Acta Histochem. Jena, 3, 277 (1957)

HEPPEL L.A. HILMOE R.J. Purification and properties of 5-nucleotidase. J. Biol. Chem. 188, 665 (1951)

HERMAN E.
PADYKULA H.A.
The effects of mercurials and cysteine on acid phosphatase and glucose-6-phosphatase.
J. Histochem. Cytochem. 4, 443 (1956)

HERNANDEZ H.H.
CHAIKOFF J.L.
Purification and properties of pancreatic cholesterolesterase.
J. Biol. Chem. Baltimore, 228, 447 (1957)

HERS H.G.
BERTHET J.
BERTHET L.
De DUVE C.
La système hexose-phosphatasique.
III Lokalisation intra-cellulaire des ferments par centrifugation fractionée.
Bull. Soc. Chim. Biol. Paris, 33, 21 (1951)

HERSCHBERG A.D.
GEISENDORF W.
PIQUET J.
Test de la cholinesterase dans les toxicoses gravidiques.
Monatsschr. Geb. Gyn. 117, 57 (1944)

HOFBAUER J.
Über den Cholinesterasegehalt der Plazenta bei Toxikosen.
West. J. Surg. Obst. Gyn. 49, 615 (1941)

HOLT S.J.
WITHERS R.J.J.
Cytochemical localization of esterases using indoxyl derivatives.
Nature, 170, 1012 (1952)

HOLTER H.
LI S.O.
Determination and properties of phosphoamidase.
C.R.Lab. Carlsberg, Ser. Chim. 27, 393 (1951)

HONJO S.
Disaccharase actions of human placenta and duodenal juice.
Naika Hokan, 4, 736 (1957) Jap. Arch. Int. Med.

HOPPE-SEYLER
THIERFELDER
Handbuch der physiologisch und pathologisch-chemischen Analyse, (1966)

HORKY Z.
Aktivität der alkalischen Phosphatase in der Plazenta bei Diabetes mellitus.
Zbl. Gyn. 86, 1474 (1964)

HOSOYA N.
HAGERMANN D.
VILLEE C.
Stimulation of fatty acid synthesis by oestradiol in vitro.
Biochem. J. 76, 297 (1960)

HÜLSMANN W.C.
MYERS D.K.
SLATER E.C.
A comparison of the properties of mitochondria isolated from liver and heart.
Biochem. J. 67, 579 (1957)

HUMKE W.
Isolierung und Verhalten der alkalischen Phosphatase in normalen und pathologischen Plazenten.
Arch. Gyn. 198, 184 (1963)

JEACOCK M.K.
MORRIS N.F.
PLESTER J.A.
The activity of alkaline and acid phosphatase in the human placenta.
J. Obst. Gyn. Brit. Empire, 70, 267 (1963)

JOEL P.B.
HAGERMANN D.D.
VILLEE C.A.
Effects of estradiol added in vitro on the metabolism of human placenta.
J. Biol. Chem. 236, 3151 (1961)

JONEK J.
SKALBA H.
KLIMKIEWICZ Z.
DZIECIUCHOWICZ L.
Das Verhalten der Leucinaminopeptidase in verschiedenen Entwicklungsstufen der menschlichen Plazenta.
Zbl. Gyn. 87, 514 (1965)

Mc. KAY D.G.
ADAMS E.C.
HERTIG A.T.
DANZIGER S.
Histochemical horizons in human embryos.
Anat. Rec. 122, 125 (1955)

Mc. KAY D.G.
HERTIG A.T.
ADAMS E.C.
RICHARDSON M.V.
Histochemical observations on the human placenta.
Obst. Gyn. 12, 1 (1958)

Mc. KAY D.G.
PINERTON J.H.M.
HERTIG A.T.
DANZIGER S.
The adult human ovary. A histochemical study.
Obst. Gyn. 18, 13 (1961)

KEILIN D.
MANN T.
Carbonic anhydrase.
Nature, London, 144, 442 (1939)

KELLEHER P.C.
KENYON C.D.
VILLEE C.A.
Serumprotein synthesis by the fetal rat.
Science, 139, 839 (1963)

KLEINER H.
WILKIN P.
SNOECK J.
Lokalisierung der Steroid-Dehydrogenasen und der Leucinaminopeptidase in der menschlichen Plazenta.
Gebh. Fhk. 22, 986 (1962)

KLEINER H.
GRAFF G.
RYMENANT M.
ROSA P.
Activité leucine-aminopeptidasique dans les grosseuses pathologiques.
Gynec. et Obstet. 62, 47 (1963)

KOELLE G.B.
A histochemical method for localizing cholinesterase activity.
Proc. Soc. Exp. Biol. NY. 70, 617 (1949)

KÖNIG P.A.
Histotopochemie von Enzymen im menschlichen Ovarium.
Fortschr. Gebh. Gyn. vol. 23, pp. 77-203, Karger, Basel, NY.(1965)

KÖNIG P.A.
Zur Klinik und Morphologie der Tubargravidität.
Med. Welt 31, 1641 (1964)

KORHONEN L.K.
CORHONEN E.
HYYPPÄ M.
PUNNONEN R.
Histochemical demonstration of carbonic anhydrase activity in the uterus.
Histochemie, 6, 164 (1966)

KRESSER M.
WORASCHEK H.J.
Untersuchungen an Peptidasen des menschlichen Fruchtwassers.
Z. Gebh. Gyn. 161, 207 (1965)

KUBLI F.
BUDLIGER H.
Beitrag zur Morphologie der insuffizienten Plazenta.
Gebh. Fhk. 23, 37 (1963)

KURATA Y.
Histochemical demonstration of carbonic anhydrase activity.
Stain. Techn. 28, 231 (1953)

KYANK H.
Atmung und aerobe Glykolyse der Toxikoseplazenta in vitro.
Geb. Fhk. 14, 1005 (1954)

KYANK H.
Untersuchungen über den Cholinesterase- und Cholinoxydasegehalt in der Plazenta normaler Schwangerer und Toxikosen.
Arch. Gyn. 185,675 (1955)

KYANK H.
Die Fermente in der normalen und Toxikoseplazenta.
Gynaecologia 145, 145 (1958)

LEDER O.
GROH R.
Histochemische Untersuchungen über die Carboanhydrase - Aktivität der Rattenplazenta.
Pflüger's Archiv ges. Physiol. 285, 19 (1965)

LEVVY G.A.
CONCHIE J.
Subcellular distribution of enzymes.
Progr. Biophys. Mol. Biol. 14, 105 (1964)

LINDERSTRØM-LANG K.
Über Darmerepsin.
Z. Physiol. Chem. 182, 151 (1929)

LOBEL B.L.
DEANE H.W.
ROMNEY S.L.
Enzymic histochemistry of the villous portion of the human placenta from six weeks of gestation to term.
Am. J. Obst. Gyn. 83, 295 (1962)

LUTWAK-MANN C.
The occurence of carbonic anhydrase in the rabbit uterus.
J. Endocrin. 11, XI (1954)

LUTWAK-MANN C.
Carbonic anhydrase in the female reproductive tract. Occurence, distribution and hormonal dependence.
J. Endocrin. 13, 26 (1955)

LUTWAK-MANN C.
ADAMS C.E. Carbonic anhydrase in the female reproductive tract, II.
J. Endocrin. 15, 43 (1957)

MAEDA K. Zur Kenntnis der Fermente in der Plazenta.
Z. Biochem. 143,347 (1923)

MARSILLI G.
PROVENZAL A. Attività transaminasica placentare.
Riv. ostet. Ginec. 9, 812 (1954)

MAVER M.E.
GRECO A.E. The intracellular distribution of cathepsin, benzocylarginine amidase and leucine amidase activities in normal rat tissues and primary rat-hepatomas.
J.Nat.Cancer Inst. 12, 37 ;1951)

MAYER M.
PANIGEL M.
LECLERC-POLYAK H. Histochemical study of the metabolism of nucleoproteins in human placenta.
Obst. Gyn. 58, 295 (1959)

MEADE B.W.
ROSALKI S.B. The origin of increased maternal serum enzyme activity in pregnancy and labour.
J. Obst. Gyn. Brit. Commonwealth, 70, 862 (1963)

MEDINA J.B.
PRATA-
MARTINS J.A. Am Termin geborene Frühgeborene. Plazentainsuffizienz.
Obst. Ginec. lat.-amer. 20, 494 (1962) (portugies.)

MELDRUM N.U.
ROUGHTON F.J.W. a) Carbonic anhydrase. Its preparation and properties.
b) The state of carbondioxide in blood.
J. Physiol. 80, 113 u. 143 (1934)

MEYER J.
WEINMANN J.P. A modification of GOMORI'S method for the demonstration of phosphoamidase in tissue sections.
J. Histochem. Cytochem. 3, 134 (1955)

MONIS B.
NACHLAS M.M.
SELIGMAN A.M. Study of leucin aminopeptidase in neoplastic and inflammatory tissues with a new histochemical method.
Cancer, 12, 601 (1959)

MÜHLBÖCK O.
KAUFMANN C. Die Wirkung der Hormone, insbesondere des Thyroxins auf die fettspaltenden Fermente.
Z. Biochem. 238, 377 (1931)

MUKHERJEE S.
KUNITAKE G.
ALFIN-SLATER R.B. The esterification of cholesterol with palmitic acid by rat liver homogenates.
J. Biol. Chem. Baltimore, 230, 91 (1958)

MYERS D.K.
SLATER E.C. The enzymic hydrolysis of adenosine triphosphate by liver mitochondria.
Biochem. J. London, 67, 558 (1957)

NACHLAS M.M.
SELIGMAN A.M.
The histochemical demonstration of esterase.
J. Nat. Cancer Inst. 9, 415 (1949)

NACHLAS M.M.
CRAWFORD D.T.
SELIGMAN A.M.
The histochemical demonstration of leucin aminopeptidase.
J. Histochem. Cytochem. 4, 423 (1956)

NACHLAS M.M.
CRAWFORD D.T.
SELIGMAN A.M.
The histochemical demonstration of leucin aminopeptidase.
J. Histochem. Cytochem. 5, 264 (1957)

NACHLAS M.M.
ROSENBLATT D.H.
MONIS B.
SELIGMAN A.M.
Improvement in the histochemical localization of leucin aminopeptidase with a new substrate.
J. Biophys. Biochem. Cyt. 7, 261 (1959)

NAIDOO D.
PRATT O.E.
The effect of magnesium and calcium ions on adenosine triphosphatase in the nervous and vascular tissues of the brain.
Biochem. J. 62, 465 (1956)

NAVRATIL E.
Enthält die menschliche Plazenta Cholinesterase?
Klin. Wschr. 18, 963 (1939)

NELSON L.
Cytochemical studies with the electron mikroskope. I Adenosine triphosphatase in rat spermatozoa.
Biochim. Biophys. Acta, 27, 634 (1958)

NEMETH A.M.
Glucose-6-phosphatase in the liver of the fetal guinea pig.
J. Biol. Chem. 208, 773 (1954)

NEMETH A.M.
Mechanisms controlling changes in tryptophanperoxidase activity in developing mammalion liver.
J. Biol. Chem. 234, 2921 (1959)

NEUMANN K.
OEHLERT G.
HAUSMANN H.
Histochemische Lokalisation des Enzyms Phosphoamidase im weiblichen Genitaltrakt und Vaginalschleim.
Z. Gebh. 141, 109 (1954)

NEWMAN W.
FEIGIN J.
WOLF A.
KABAT E.A.
Histochemical studies on tissue enzymes; IV Distribution of some enzyme system which liberate phosphate at pH 9,2 as determined with various substrates and inhibitors: demonstration of three groups of enzymes.
Am. J. Pathol. 26, 254 (1950)

NEZELOF C.
ROUSSEL A.
Development anatomo-histologique du placenta.
Sem. Hôp. Paris 39, 155 (1954)

NORDLIE R.C.
ARION W.J.
Evidence for the common identity of glucose-6-phosphatase, inorganic pyrophosphatase and pyrophosphate-glucose phosphotransferase.
J. Biol. Chem. 239, 1680 (1964)

NOVIKOFF A.B.
Approaches to the in vivo function of subcellular particles.
In: Subcellular particles, Ronald, NY. (1959)

NOVIKOFF A.B.
The cell
In Brachet J. und Mirsky A.E., editors, NY., Acad Press. Inc. vol. 2p, p 423 (1961)

NOVIKOFF A.B.
PODBER E.
RYAN J.
Intracellular distribution of phosphatase activity in rat liver.
Fed, Proc. 9, 210 (1950)

NOVIKOFF A.B.
PODBER E.
RYAN J.
NOE E.
Biochemical heterogenity of the cytoplasmic particles isolated from rat liver homogenates.
J. Histochem. Cytochem. 1, 27 (1953)

ORD M.G.
THOMPSON R.H.S.
Nature of placental cholinesterases.
Nature, London, 165, 927 (1950)

PADYKULA H.A.
HERMANN E.
The specifity of the histochemical methods for adenosine triphosphatase.
J. Histochem. Cytochem. 3, 170 (1955)

PAZOUREK J.
Alkaline phosphatases in the placenta in the course of late toxemia.
Čsl. Gynek. 27/41, 102 (1962)

PEARSE A.G.E.
Histochemistry, theoretical and applied.
Second edition, Churchill, London (1960)

PERROTTA C.A.
LEWIS P.R.
A histochemical study of placental esterases in the guinea pig and in the human.
J. Anat. London, 92, 110 (1958)

POPJAK G.
Symposio an quantitative Biology.
Baltimore, vol. XIX, pp 200 (1954)

PRITCHARD J.A.
Plasma-cholinesterase activity in normal pregnancy and in eclamptogenic toxemies.
Am. J. Obst. 70, 1083 (1955)

POSPISIL J.
BALAK K.
Histology and histochemistry of placenta in women with late toxemia.
Čsl. Gynek. 27/41, 104 (1962)

PULKKINEN M.O. Arylsulfatase, on the hydrolysis of some steroidsulphates in developping organism and placenta. Acta Physiol. Scand. 52, Suppl. 180, 7 (1958)

RAUCH S. ZENDER R. KÖSTLIN A.M. Zur Biochemie der Plazentaextrakte. Helv. Med. Acta 23, IA 75 (1956)

REIS J. O-5 Nukleotydazie. Acta Biol. Exper. (Warsaw) 11, 122 (1937)

RICHTERICH R. Enzympathologie. Enzyme in Klinik und Forschung. Springerverlag Berlin, (1958)

ROBISON R. The possible significance of hexose phosphoric esters in ossification. Biochem. J. 17, 286 (1923)

ROCHE J. Van THOAI N. Phosphatase alcaline. Adv. Enzymol. 10, 83 (1950)

ROUX J. VILLEE C.A. Aspects du développement de la biologie placentaire. Médicine et Hygiène, Genève 427, 193 (1959)

ROY A.B. The sulphatase of ox liver. Biochem. J. 53, 12 (1953)

ROY A.B. The intracellular distribution of sulphatase. Biochim. et Biophys. acta 14, 149 (1954)

ROY A.B. The sulphatase of ox liver. Further observations on sulphatase B and an investigation of the origin of fractions A and B. Biochem. J. 57, 465 (1954)

ROY A.B. The sulphatase of ox liver. 4. A note on the inhibition of sulphatases A and B. Biochem. J. 59, 8 (1955)

RUFFO A. ROMANO M. GIAMPOLO R. Presence of an organic transsulfurase in normal and neoplastic tissues. Boll. Soc. Ital. Sper. 29, 46 (1953)

RUTENBURG A.M. COHEN R.B. SELIGMAN A.M. Histochemical demonstration of arylsulphatase. Science, 116, 539 (1952)

RUTENBURG A.M.
RUTENBURG S.H.
MONIS B.
TEAGUE R.
SELIGMAN A.M.
Histochemical demonstration of ß-D-galactosidase in the rat.
J. Histochem. Cytochem. 6, 122 (1958)

RYAN K.J.
Conversion of androgens to estrogens by human placental microsomes.
Fed. Proc. 17, 138 (1958)

SAWYER C.H.
EVERETT J.W.
MARKEE J.E.
A neural factor in the mechanism by which estrogen induces the release of luteinizing hormone in the rat.
J. Endocrin. 44, 218 (1949)

SEELICH F.
EHRLICH-GOMOLKA H.
The acid and alkaline phosphatase of placenta and amniotic fluid.
Enzymol. 15, 96 (1951)

SEGAL H.L.
BRENNER B.M.
5-nucleotidase of rat liver microsomes.
J. Biol. Chem. 235, 471 (1960)

SELIGMAN A.M.
NACHLAS M.M.
COHEN R.
Histochemical demonstration of ß-glucuronidase and sulphatase.
Cancer Res. 10, 240 (1950)

SIEBERT G.
5-Nukleotidase.
In Hoppe-Seyler, Thierfelder
Physiol. Path. chem. Analyse, VI,B 1052 (1966)

SIEGEL J.A.
Leucin aminopeptidase in pregnancy.
Obst. Gyn. 14, 488-490 (1959)

SIEGEL P.
Die Rolle der Plazenta beim intrauterinen Fruchttod.
Zbl. Gyn. 85, 1325 (1963)

SINGER M.F.
FRUTON J.S.
Some properties of beef spleen phosphoamidase.
J. Biol. Chem. 229, 111 (1957)

SIPUNOVA M.J.
Zur Histochemie der Plazenta.
Akus. i. Ginek. H 6, 44 (1953)

SKOU J.C.
The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves.
Biochim. Biophys. Acta 23, 394 (1957)

SMITH E.L.
LUMRY R.
Cold Spring Harbour.
Symposia Quant. Biol. 14, 168 (1950)

SMITH E.L.
SPACKMANN D.H.
Leucin aminopeptidase. Activation, specifity and mechanism of action.
J. Biol. Chem. 212, 271 (1955)

SMITH E.L.
HILL R.L. In Boyer-Lardy-Myrbäck, Enzymes, vol. IV, p. 37 (1961)

SNOECK J. Le placenta humain. Aspects morphologiques et fonctionnels. Mason et Cie, Paris (1958)

STARK G. Kathepsin in den einzelnen Zellfraktionen der Plazentazelle. Arch. Gyn. 187, 687 (1956)

STARK G.
KLINHART H. Nukleinsäuren und Wachstum der Plazenta. Klin. Wschr. 125, 1-1258 (1956)

STARK G.
JUNG W. Phosphatasen in der Plazenta und ihren einzelnen Zellfraktionen. Arch. Gyn. 187, 398 (1956)

STARK G.
JUNG W. Phosphatasen in den Zellstrukturen der Plazenta bei pathologischen Schwangerschaften. Arch. Gyn. 191, 437 (1959)

STARK G.
SIEBERT G. Kathepsinaktivität in den Zellfraktionen der Plazenta bei Gestosen und Übertragungen. Zbl. Gyn. 81, 1142 (1959)

STARK G.
WEISE F. ATP, ADP, AMP im Blut während normaler und pathologischer Schwangerschaft sowie unter der Geburt. Arch. Gyn. 197, 129-139 (1962)

STETTEN M.R.
TAFT H.L. Metabolism of inorganic pyrophosphatase. J. Biol. Chem. 239, 4041 (1964)

STOLL P.
EBNER H.
STRECKER R.H. Vergleichende histochemische, histologische und zytologische Untersuchungen am weiblichen Generationstrakt. Arch. Gyn. 180, 76 (1951)

STRACK E.
GEISSENDÖRFER H. Über den Gehalt an Cholin und Acetylcholin in der unreifen menschlichen Plazenta. Arch. Gyn. 160, 544 (1936)

STRAUSS G.
HIRSCHE H.D. Untersuchungen zur Problematik der histochemischen Fermentlokalisation in der Plazenta, z.B. an den Phosphatasen. Arch. Gyn. 198, 187 (1963)

SWANSON M.A. Phosphatases of liver. I Glucose-6-phosphatase. J. Biol. Chem. 184, 647 (1950)

SZONTAGH F.E.
TRAUB A. Zur Histochemie des Trophoblasten. Geb. Gyn. 159, 68 (1962)

THOMSEN K. Histochemische Untersuchungen über die saure Phosphatase in der menschlichen Plazenta. Arch. Gyn. 187, 264 (1956)

THOMSEN K. Über die Aktivität der alkalischen Phosphatase in der menschlichen Plazenta. Arch. Gyn. 187, 1 (1956)

THOMSEN K. Studien zur Histochemie der Plazenta. Gebh. Fhk. 18, 354 (1958)

THOMSEN K.
NETZ L. Über Fermentaktivität in Hofbauerzellen. Arch. Gyn. 185, 794 (1955)

THOMSEN K.
BLANKENBURG H. Über die Entwicklung und Rückbildung der Langhans'schen Zellschicht in der menschlichen Plazenta. Arch. Gyn. 187, 638 (1956)

THOMSEN K.
PANKA R. Über die Aktivität der Nukleotidase in der menschlichen Plazenta. Arch. Gyn. 188, 95 (1956)

TORDA C. Cholinesterasecontent of tissues without innervation (the placenta). Proc. Soc. Exp. 51, 398 (1942)

UHER J.
JIRASEK J.E.
SIMA A. Histochemische Studie von Blasenmole und Plazenta eines fünf Monate alten Fetus. Zbl. Gyn. 85, 477 (1963)

VALVERDE P.V. Cit. nach RICHTERICH R., Enzympathologie (1958)
Acta gynaec. obstet. hisp. lusit. 4, 293 (1955)

VESCIA A. Unterschiede im elektrophoretischen Verhalten von Peptidasen aus normalen und neoplastischen Geweben. Hoppe Seyler's Zschr. Physiol. Chem. 299, 54 (1955)

VESCIA A.
FIDANZA A. The peptidases of human placenta: presence of a D-peptidase. Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 25, 46 (1949)

VILLEE C.A.
HAGERMANN D.D. Effects of estradiol on the metabolism of human placenta in vitro. J. Biol. Chem. 205, 873 (1953)

WACHSTEIN M.
MEISEL E. Histochemical demonstration of 5-nucleotidase activity in cell nuclei. Science, Lancaster Pa., 115, 652 (1952)

WACHSTEIN M.
MEISEL E.
NIEDZWIEDZ A. Histochemical demonstration of mitochondrial adenosine triphosphatase with the lead-adenosine triphosphate technique. J. Histochem. Cytochem. 8, 387 (1960)

WACHSTEIN M.
MEAGHER J.G.
ORTIZ J.
Enzymatic histochemistry of the term human placenta.
Am. J. Obst. Gyn. 87, 13 (1963)

WALLENFELS K.
ZARNITZ M.L.
LAULE G.
BENDER H.
KESER M.
Untersuchungen über milchzuckerspaltende Enzyme.
Biochem. Zschr. 331, 459 (1959)

WARONSKI W.
KUDLA W.
Der alkalische Phosphatasespiegel in der Plazenta und im Serum gesunder Schwangerer.
Ginec. Pol. 32, 521 (1961)

WEISZ B.
Peptidase and proteinase activity of beef thyreoid tissue.
J. Biol. Chem. 205, 193 (1953)

WERLE E.
HARTMANN W.
Über die Cholinesterase der Plazenta und des Blutes der Schwangeren.
Klin. Wschr. 30, 474 (1952)

WIELENGA G.
WILLIGHAGEN R.G.J.
The histochemistry of the syncytiotrophoblast and the stroma in the normal full-term placenta.
Am. J. Obst. Gyn. 84, 1059 (1962)

WILLMER E.N.
The localization of phosphatase in tissue cultures.
J. Exp. Biol. 19, 11 (1942)

WISLOCKI G.B.
The chemical histology of the human placenta and decidua with reference to mucopolysaccharides, glycogen, lipids and acid phosphatase.
Am. J. Anat. 83, 1 (1948)

WISLOCKI G.B.
DEMPSEY E.W.
Placental phosphatases.
Am. J. Anat. 77, 365 (1945)

WONG A.
CHANG H.C.
Studies on tissue acetylcholin. Origin, significance and fate of acetylcholin in human placenta.
Chin. J. Physiol. 7, 151 (1933)

WOODBURY R.A.
ABREU B.E.
TORPIN R.
FRIED P.H.
Influence of neostigminsulfat on praeeclamptic patients and cholinesterase activity of placenta from normal and praeeclamptic patients.
J. Am. Med. Ass. 128, 585 (1945)

ZACKS S.J.
WISLOCKI G.B.
Placental esterases.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 84, 438 (1953)

L e b e n s l a u f

Ich, Rudolf Mayer, wurde am 28. Januar 1944 als Sohn des Schreiners Wilhelm Mayer und seiner Frau Lina geb. Bayer in Blaubeuren geboren. Nach vier Jahren Volksschule und sechs Jahren am Progymnasium in Blaubeuren wechselte ich an das Schubart-Gymnasium in Ulm, wo ich im März 1963 die Reifeprüfung bestand.

Im Sommersemester 1963 begann ich in Tübingen das Studium der Medizin. Nach zwei Semestern legte ich das Vorphysikum und nach weiteren drei Semestern im Oktober 1965 das Physikum in Tübingen ab. Anschließend studierte ich zwei Semester an der Universität in Wien und kehrte dann wieder nach Tübingen zurück. Hier begann ich im Wintersemester 1966/67 mit meiner Dissertation. Das medizinische Staatsexamen bestand ich in Tübingen am 11.2.1969.

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 19 a
Telefon 291063

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 19 a
Telefon 291063